

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

Facultad de Medicina



**SISTEMA DOPAMINÉRGICO TALÁMICO DE PRIMATES:
ULTRAESTRUCTURA EN NÚCLEOS ASOCIATIVOS Y
MOTORES**

TESIS DOCTORAL

Patricia Martínez Sánchez

2010

**SISTEMA DOPAMINÉRGICO TALÁMICO DE PRIMATES:
ULTRAESTRUCTURA EN NÚCLEOS ASOCIATIVOS Y
MOTORES**

Trabajo de investigación que presenta

Patricia Martínez Sánchez

Para optar al grado de Doctor en Medicina en la

Universidad Autónoma de Madrid

dirigido por los Doctores

Carmen Cavada Martínez

Catedrática de Anatomía Humana y Neurociencia

y

Miguel Garzón García

Profesor Titular de Anatomía Humana y Neurociencia

Facultad de Medicina

Universidad Autónoma de Madrid

9 de Septiembre de 2010

Carmen Cavada Martínez, Catedrática de Anatomía Humana y Neurociencia, y Miguel Garzón García, Profesor Titular de Anatomía Humana y Neurociencia, ambos en la Universidad Autónoma de Madrid,

HACEN CONSTAR

Que Doña Patricia Martínez Sánchez ha realizado bajo nuestra dirección su trabajo de Tesis Doctoral “SISTEMA DOPAMINÉRGICO TALÁMICO DE PRIMATES: ULTRAESTRUCTURA EN NÚCLEOS ASOCIATIVOS Y MOTORES”, que ha terminado con el mayor aprovechamiento.

Revisado el presente trabajo, quedamos conformes con su presentación para ser juzgado.

Y para que conste y surta los efectos oportunos, lo firmamos en Madrid a 9 de Septiembre de 2010.

Fdo. Dra. Carmen Cavada Martínez

Fdo. Dr. Miguel Garzón García

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo, que ha supuesto un gran desafío personal, ha podido concluirse gracias a la inestimable ayuda e imprescindible apoyo de muchas personas. Por ello quiero expresar mi agradecimiento a:

Dra. Carmen Cavada, por su apoyo constante, su infinita generosidad y paciencia, su gran capacidad de motivación y su esfuerzo por que alcancemos la perfección en todo lo que realizamos.

Dr. Miguel Garzón, por su inestimable ayuda, su buen hacer en todo lo que emprende, su paciencia, su gran capacidad didáctica y su apoyo incondicional.

Dr. Exuperio Díez-Tejedor, por su confianza en mí, por creer que podría realizar este trabajo que, aunque muy relacionado con la Neurología, dista de la práctica clínica habitual a la que me he dedicado en los últimos años.

Dr. Miguel Ángel García-Cabezas y Dr. Miguel Ángel Sánchez-González, por sus continuos consejos y su capacidad para compartir sus conocimientos.

Dra. Esther del Cid y Dra. Ximena Alvira, por su paciencia y todos los conocimientos que me han transmitido sobre los experimentos de ultraestructura.

Dña. Pai Romero, Dña. Gemma de la Fuente y Dña. Rosa Sánchez por su trabajo exquisito en el procesamiento de las muestras.

D. Franciso Urbano y Dra. Covadonga Aguado, por su imprescindible labor y apoyo en el microscopio electrónico.

Expreso también mi agradecimiento a todos los miembros del Servicio de Neurología del Hospital Universitario La Paz de Madrid. En este Servicio he aprendido mi especialidad médica y siempre he contado con el apoyo de unas grandes compañeras: María Gutierrez, María de los Ángeles Ortega y Blanca Fuentes. Agradezco la amistad y el ejemplo de armonía que me transmitieron mis compañeros de residencia, en concreto mis corresidentes Francisco Javier Rodríguez de Rivera y Joaquín Ojeda. También quiero agradecer el apoyo y entusiasmo que siempre me han transmitido todos los que han sido mis residentes en mi etapa de médico adjunto. En particular a Jéssica Fernández y a Josmarlin Medina: mi gratitud por su incondicional amistad.

Agradezco a mis padres, mis cuatro hermanas y mi hermano, su apoyo constante y su cariño en todos estos años.

Finalmente, agradezco a David, mi esposo, el gran amor que me dedica todos los días y que sirve de oxígeno para que pueda seguir respirando.

Este trabajo ha sido financiado con ayudas del Ministerio de Ciencia y Tecnología
(Proyectos BFI 2002-00513, SAF2005-05380 y SAF 2008-04276)

I discovered, though unconsciously and insensibly,
that the pleasure of observing and reasoning was
a much higher one than that of skill and sports.

CHARLES DARWIN

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
 1. EL TÁLAMO DE LOS PRIMATES.....	 4
1.1. Organización sináptica y conectiva del tálamo.....	4
1.1.1. Núcleos de relevo primario y núcleos asociativos.....	4
1.1.2. Aferencias moduladoras del tálamo.....	5
1.1.3. Tipos neuronales.....	6
1.1.4. Circuito básico del tálamo de los primates.....	8
1.2. Funciones del tálamo.....	9
1.2.1. Tálamo y funciones cerebrales superiores.....	10
1.2.2. Tálamo y sistema motor.....	10
1.3. El núcleo dorsomediano (MD).....	11
1.4. Los núcleos ventrales.....	12
 2. ULTRAESTRUCTURA DEL TÁLAMO.....	 15
2.1. Ultraestructura de las neuronas.....	16
2.2. Terminales sinápticos.....	19
2.2.1. Los terminales RL.....	21
2.2.2. Los terminales RS.....	23
2.2.3. Los terminales F: F1 y F2.....	24
2.2.4. Otros tipos de terminales.....	24
2.3. El glomérulo y la tríada.....	25
2.4. Las interneuronas: ultraestructura de sus eferencias y aferencias	26
2.5. Ultraestructura de núcleos talámicos asociativos: el núcleo dorsomediano.....	27
2.5.1. Tipos de terminales presinápticos dentro del glomérulo.....	28
2.5.2. Tipos de terminales presinápticos en el neuropilo extraglomerular.....	29
2.6. Ultraestructura de los núcleos motores: núcleos ventrales.....	30
2.6.1. Núcleo ventral anterior: subdivisión magnocelular.....	30
2.6.1.1. Células.....	30
2.6.1.2. Perfiles presinápticos en el neuropilo.....	31
2.6.1.3. Organizaciones sinápticas.....	32
2.6.2. Núcleo ventral anterior: subdivisión densocelular.....	32

2.6.2.1. Tipos de perfiles presinápticos en el neuropilo.....	33
2.6.2.2. Densidad de perfiles y organizaciones sinápticas.....	34
2.6.3. Núcleo ventral lateral.....	36
2.6.3.1. Perfiles presinápticos.....	36
 3. LA DOPAMINA EN EL TÁLAMO.....	 40
3.1. Inervación dopaminérgica del núcleo dorsomediano.....	41
3.1.1. Origen de la inervación dopaminérgica del núcleo dorsomediano.....	41
3.1.2. Distribución de la inervación dopaminérgica del núcleo dorsomediano.....	41
3.2. Inervación dopaminérgica de los núcleos ventrales.....	42
3.2.1. Origen de la inervación dopaminérgica de los núcleos ventrales.....	42
3.2.2. Distribución de la inervación dopaminérgica en los núcleos ventrales.....	42
 PLANTEAMIENTO, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	 43
 Referencias de la Introducción, Planteamiento, Hipótesis y Objetivos.....	 49
 ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN NÚMERO 1:	
DOPAMINE INNERVATION IN THE THALAMUS: MONKEY VERSUS	
RAT.....	61
ABSTRACT.....	63
INTRODUCTION.....	63
MATERIALS AND METHODS.....	63
RESULTS.....	66
DISCUSSION.....	68
REFERENCES.....	72
 ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN NÚMERO 2:	
ULTRASTRUCTURE OF THE DOPAMINE INNERVATION IN THE	
PALLIDAL AND NIGRAL TERRITORY OF THE VENTRAL NUCLEI OF THE	
MONKEY THALAMUS.....	75
ABSTRACT.....	78
INTRODUCTION.....	79

MATERIAL AND METHODS.....	80
RESULTS.....	83
DISCUSSION.....	88
REFERENCES.....	93
FIGURES.....	97
 DISCUSIÓN.....	 101
1. Características ultraestructurales de los perfiles inmunorrectivos para DAT...	104
2. Localización y morfología de la inmunorreactividad para DAT: implicaciones funcionales.....	108
3. Principales conexiones corticales y subcorticales de los núcleos estudiados: posibles acciones de la dopamina.....	110
3.1. El núcleo dorsomediano.....	110
3.2. Los núcleos ventrales.....	111
4. La dopamina talámica en enfermedades psiquiátricas y neurológicas.....	114
REFERENCIAS DE LA DISCUSIÓN.....	117
 CONCLUSIONES.....	 129

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

El tálamo, junto con la corteza cerebral, desempeña un papel importante en el análisis e integración de las funciones sensitivas, colaborando en la percepción de estímulos visuales, auditivos, mecánicos, térmicos y dolorosos. Además, también participa en procesos psicofuncionales superiores como la atención, emoción, el lenguaje, la memoria y la función ejecutiva (Sherman y Guillery, 2006). Uno de los circuitos más importantes del tálamo es el que establece con la corteza frontal, a través del cual participa en el control del movimiento, por sus conexiones con la corteza frontal motora, y la memoria operativa (“working memory”, por sus conexiones con la corteza prefrontal (Gaspar y cols., 1992; Oeth y Lewis, 1992).

El neurotransmisor dopamina (DA) desempeña un papel muy destacado tanto en el control motor complejo (Agid, 1991), como en la memoria operativa (Brozoski y cols., 1979). De hecho, enfermedades en las que existe una transmisión dopaminérgica anómala, como la enfermedad de Parkinson, la degeneración corticobasal y otras enfermedades neurodegenerativas, cursan característicamente con síntomas motores extrapiramidales y con alteración de la memoria operativa en diferentes grados (Emre, 2003; Lang, 2003). La mayoría de los trabajos sobre inervación dopaminérgica cortical se han centrado en la corteza frontal, tanto en sus áreas motoras como en la corteza prefrontal. Sin embargo, la inervación dopaminérgica en el tálamo de primates ha sido poco estudiada y, en cierto modo, era una gran desconocida hasta la última década. La causa más plausible es la casi total ausencia de esta inervación en el tálamo de roedores (Groenewegen, 1988; Papadopoulos y Parnavelas, 1990). Recientemente ha sido descrito un sistema dopaminérgico talámico, tanto en el mono como en el hombre, que inerva a la mayoría de sus núcleos con diferente intensidad. Característicamente, los núcleos que establecen conexiones con la corteza frontal, reciben una inervación dopaminérgica muy rica desde estructuras subcorticales (Sánchez-Gonzalez y cols., 2005; García-Cabezas y cols., 2007).

Las características ultraestructurales de los axones dopaminérgicos en primates son poco conocidas y los elementos con los que realizan sinapsis son una incógnita. En la presente Tesis Doctoral nos hemos propuesto estudiar la ultraestructura de la inervación dopaminérgica de los núcleos talámicos conectados con la corteza frontal: los núcleos

ventrales, que están relacionados con las áreas motoras de la corteza frontal, y el núcleo dorsomediano (MD), que está relacionado con la corteza prefrontal.

1. EL TÁLAMO DE LOS PRIMATES

Las tres grandes divisiones del tálamo son el epitálamo, el tálamo dorsal y el tálamo ventral, que se distinguen por su distinto origen y desarrollo ontogenético (Rose, 1942). La gran mayoría de los núcleos talámicos pertenecen al tálamo dorsal y su característica común es que están conectados recíprocamente con la corteza cerebral.

En la parcelación del tálamo dorsal de los primates se distinguen varios grupos de núcleos: el grupo anterior; el grupo ventral, formado por el núcleo ventral anterior (VA), núcleo ventral lateral (VL) y núcleo ventral posterior (VP); el grupo medial, formado principalmente por el núcleo dorsomediano (MD); el grupo lateral; los núcleos intralaminares; los núcleos de la línea media; y el grupo posterior (Jones, 1998; Sanchez-Gonzalez, 2004).

1.1. Organización sináptica y conectiva del tálamo

1.1.1. Núcleos de relevo primario y núcleos asociativos

Cada núcleo del tálamo dorsal tiene una aferencia que controla su actividad, que se denomina aferencia directriz o *driver input* (Sherman y Guillery, 1998; Sherman y Koch, 1998; Sherman y Guillery, 2006). El *driver input* es la aferencia que trae la información primaria específica para cada núcleo y que será transmitida desde ese núcleo a la corteza cerebral o al estriado. El *driver input* dirige la actividad de las neuronas de proyección de cada núcleo talámico y, en general, es glutamatérgico (excitatorio), pero hay notables excepciones como las aferencias palidales o nigrales en los núcleos VA y MD. Las demás aferencias son presuntamente moduladoras, es decir, participan en el procesamiento de esa información y pueden provocar cambios cuantitativos en la misma, pero no son el componente esencial del mensaje que será transmitido a la corteza (Sherman y Guillery, 2006).

Según el *driver input* los núcleos del tálamo dorsal se pueden clasificar en núcleos de relevo primario y núcleos asociativos. Los núcleos de relevo primario son aquellos cuyos *driver inputs* provienen de centros subcorticales. Los núcleos asociativos son

aquellos cuyo *driver input* viene de la corteza cerebral, concretamente de la capa V. Estos núcleos, al igual que los de relevo primario, proyectan a otras regiones de la corteza cerebral. Los núcleos asociativos, entre los que se encuentra el MD, pueden actuar como estaciones de relevo en vías cortico-corticales, es decir, transmiten información a la corteza sobre información que están siendo procesada en otras cortezas. Schwartz y cols. (1991) demostraron que el *driver input* del MD, proviene mayoritariamente de la corteza frontal.

Los núcleos ventrales son núcleos de relevo primario, implicados directamente en el sistema motor, y sus *driver inputs* provienen de la *pars reticulata* de la sustancia negra (VAmc principalmente), globo pálido medial (sobre todo a VAdc) y cerebelo (VL fundamentalmente) (Kultas-Ilinsky e Ilinsky, 1991; Kultas-Ilinsky y cols., 1997).

1.1.2. Aferencias moduladoras del tálamo.

Clásicamente se ha establecido que las aferencias moduladoras del tálamo están constituidas por axones de las neuronas piramidales de la capa VI de la corteza y por axones procedentes del núcleo reticular del tálamo, además de un conjunto de aferencias del tronco del encéfalo (Sherman y Koch, 1998) (Figura 1). Recientemente nuestro grupo ha descrito en el tálamo de macaco un sistema de aferencias dopaminérgicas, presumiblemente moduladoras, con origen en una gran diversidad de poblaciones neuronales, incluyendo núcleos del mesencéfalo y del hipotálamo (Sánchez-Gonzalez y cols., 2005; García-Cabezas y cols., 2007).

Las aferencias troncoencefálicas representan el 30% de las sinapsis en el núcleo geniculado lateral del gato, y entre ellas se encuentran: 1) axones colinérgicos provenientes del el área parabraquial y del área laterodorsal tegmental del puente, y también, aunque en menor medida, desde los grupos colinérgicos del prosencéfalo basal (Heckers y cols., 1992), 2) axones noradrenérgicos desde el locus coeruleus, 3) axones serotoninérgicos desde el núcleo dorsal del rafe, y 4) axones histaminérgicos desde la región tuberomamilar (Sherman y Koch, 1998; Jones , 2008).

Las aferencias dopaminérgicas del tálamo se originan en grupos dopaminérgicos del hipotálamo (especialmente A13) y del mesencéfalo (grupos A10 y A8), así como de un

grupo de neuronas presuntamente dopaminérgicas del núcleo parabraquial lateral (Sánchez-González y cols., 2005).

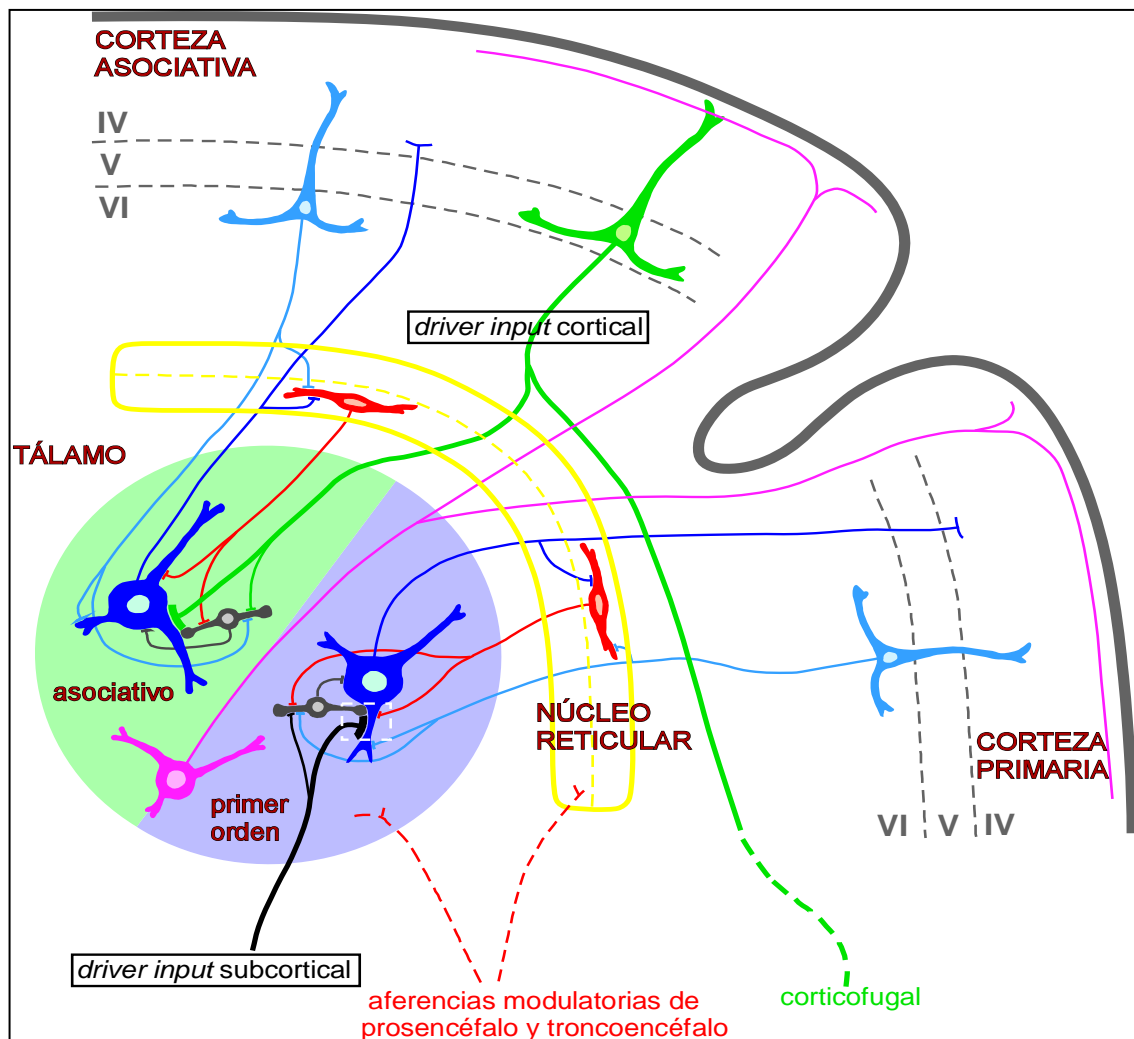


Figura 1: Esquema de la organización básica del tálamo de primate tomada de M. A. Sánchez González (2004). En azul oscuro se representan las neuronas de proyección del tálamo que proyectan a capa IV de corteza. Las que proyectan a capas superficiales están en violeta. Por simplificación no se han dibujado las relaciones sinápticas de estas últimas, similares a las de las otras neuronas de proyección. Las interneuronas intrínsecas están en color gris, y las neuronas GABAérgicas del núcleo reticular están en color rojo. El recuadro discontinuo enmarca una tría sináptica, en ella el *driver input* contacta tanto con la dendrita de la neurona de proyección como con la dendrita presináptica GABAérgica, que a su vez hace sinapsis con la dendrita de la neurona de proyección.

1.1.3. Tipos neuronales

Existen tres tipos neuronales en el tálamo de los primates: las neuronas de proyección (o de relevo), las interneuronas intrínsecas, y las neuronas del núcleo reticular (Jones, 2008). En la Figura 1 se representan estos tres tipos de neuronas, así como el circuito básico en el que se organizan en relación con la corteza cerebral.

Las neuronas de proyección son neuronas glutamatérgicas que proyectan a la corteza cerebral, al estriado o a la amígdala, y constituyen la salida del tálamo. Aunque su

morfología es variable, suelen tener un árbol dendrítico profuso que irradia en todas las direcciones desde el soma, y un axón mielínico relativamente grueso.

Las interneuronas intrínsecas son neuronas pequeñas con tres o cuatro prolongaciones dendríticas que terminan ramificándose en unos apéndices globulares, llamados dendritas presinápticas, que contienen vesículas con GABA y son la principal conexión sináptica de estas células. Tienen un fino axón que se ramifica en la vecindad de la neurona. Las interneuronas intrínsecas constituyen aproximadamente el 30% de las neuronas de los núcleos del tálamo dorsal de primates (Clark y cols., 1989; Montero y Zempel, 1986; Hendry 1991; Hunt y col.s, 1991). Por el contrario, el tálamo de los roedores carece de interneuronas intrínsecas en el tálamo dorsal, excepto en los núcleos geniculados lateral y medial, y en el núcleo lateral posterior (LP) (Ottersen y Storm-Mathisen, 1984).

El núcleo reticular del tálamo está constituido por un solo tipo celular. Se trata de neuronas GABAérgicas grandes y con forma ovoidea, cuyas dendritas están relativamente poco ramificadas y emergen de los polos del soma alcanzando gran longitud. Su campo dendrítico tiene forma de disco adosado a la cara externa del tálamo dorsal (Ramón y Cajal, 1904), y tienen un fino axón mielínico que inerva los núcleos del tálamo dorsal.

Por último, en el tálamo también existen células gliales, como los astrocitos. Éstos tienen un núcleo grande y pálido y un cierto número de procesos que se disponen en forma estrellada. Los astrocitos son considerados elementos de soporte que forman un armazón tridimensional aunque también se ha visto que participan de forma activa en la recaptación de algunos neurotransmisores monoaminérgicos (Russ y cols., 1996). Esto significa que las células gliales podrían contribuir a la inactivación de los neurotransmisores liberados al espacio sináptico. Por otra parte, estudios recientes han mostrado que los astrocitos se activan con la liberación sináptica de neurotransmisores, con la consiguiente liberación de gliotransmisores que regulan la eficacia y plasticidad sináptica. En consecuencia, el conocimiento tradicional de la función sináptica, que era el resultado de intercambio de señales sólo entre las neuronas, está cambiando para incluir una señalización bidireccional entre las neuronas y los astrocitos (Perea y Araque, 2010).

1.1.4. Circuito básico del tálamo de los primates

La organización sináptica del tálamo de los primates es similar en los núcleos primarios y asociativos (Figura 1). Los *driver inputs* alcanzan las neuronas de proyección y éstas envían su axón hasta la capa IV de la corteza del mismo hemisferio (o hacia capas superficiales, ver más adelante). A su paso por el núcleo reticular, este axón deja una o varias colaterales que hacen sinapsis en las neuronas inhibitorias de este núcleo. La corteza envía de vuelta una proyección al tálamo, originada en la capa VI, que también deja una o varias colaterales en el núcleo reticular. Esta proyección se dirige a las regiones del tálamo de las que la región cortical en cuestión recibe inervación, si bien cada neurona cortico-talámica de la capa VI alcanza una extensión del tálamo entre 2 y 5 veces superior a la región desde la que recibe inervación (Jones, 1998). Los axones originados en capa VI de la corteza contactan también en el tálamo con las interneuronas intrínsecas. La proyección córtico-talámica desde capa VI es la principal aferencia del tálamo en términos cuantitativos (un orden de magnitud por encima de los *driver inputs*), lo que da una idea del intenso control al que está sometido el tálamo por parte de la corteza. Las neuronas piramidales de la capa V de la corteza cerebral que proyectan a los núcleos asociativos del tálamo no dejan colaterales en el núcleo reticular, al igual que los *driver inputs* subcorticales. Las neuronas del núcleo reticular proyectan a la región del tálamo dorsal de la que reciben contactos, y también dejan colaterales en el propio núcleo reticular (no representado en la Figura 1 por simplificación). En el tálamo dorsal, estos axones hacen sinapsis principalmente en dendritas proximales de las neuronas de proyección, aunque también pueden contactar con las interneuronas inhibitorias (Ilinsky y cols., 1999).

Los axones de las neuronas piramidales de la capa VI hacen sinapsis en las dendritas distales de las neuronas de proyección. Por el contrario, los *drivers input* suelen hacer sinapsis en las dendritas proximales de estas neuronas. Ahí forman agregados con dendritas presinápticas de interneuronas intrínsecas y con los otros tipos de terminales (axones del núcleo reticular, aferentes modulatorios troncoencefálicos) excepto los axones de capa VI cortical, formándose un complejo entramado sináptico conocido como glomérulo. Este término tiene su origen en que, en el gato, estas estructuras presentan una envuelta glial. En el mono la estructura es más compleja y está extendida formando, en terminología de Jones, “archipiélagos de terminales” (Jones, 2008).

Dentro de este complejo sistema multisináptico existe una estructura característica llamada tríada sináptica. En ella, el terminal glutamatérgico (*driver input*) contacta tanto con la dendrita de la neurona de proyección como con la dendrita presináptica GABAérgica, que a su vez hace sinapsis con la dendrita de la neurona de proyección (Figura 2).

1.2. Funciones del tálamo

Podemos resumir las funciones del tálamo en cuatro: procesar y transmitir información sensitiva llegada desde la periferia a la corteza cerebral, monitorizar la actividad motora

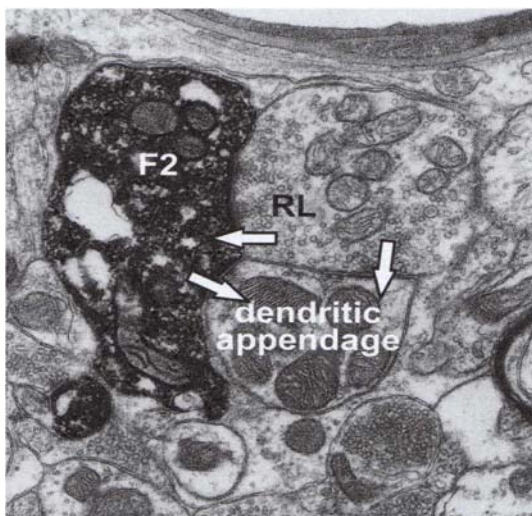


Figura 2. Micrografía electrónica tomada de Sherman y Guillery (2006), que muestra una tríada en el núcleo geniculado lateral del gato. La tríada se compone una dendrita presináptica (F2) de una interneurona, un terminal grande glutamatérgico del tracto óptico (RL) y un apéndice dendrítico de una neurona de proyección ("dendritic appendage"). Se observan tres sinapsis (flecha): una del terminal F2 con el apéndice dendrítico, y dos del terminal RL: una con F2 y la otra con el apéndice dendrítico.

a través de sus conexiones con los ganglios de la base, el cerebelo y las cortezas motoras, transmitir información entre cortezas asociativas y entre éstas y estructuras subcorticales en procesos relacionados con funciones superiores y, por último, participar en el control del estado general del individuo y su capacidad para responder a estímulos, ejecutar movimientos, o tener una actividad consciente (Sherman y Guillery, 2006).

La función de relevo del tálamo se basa, además de en la gran precisión de sus conexiones aferentes y eferentes, en la capacidad de sus neuronas de proyección de generar, cuando su potencial de membrana está estabilizado a niveles de relativa despolarización, potenciales de acción de forma fásica en respuesta a un estímulo excitatorio. Estos potenciales de acción pueden alcanzar altas frecuencias, reproduciendo fielmente el *driver input* (Sherman y Guillery, 2006).

1.2.1. Tálamo y funciones cerebrales superiores

La gran extensión de los núcleos asociativos en el tálamo de primates, paralela a la de las cortezas asociativas, hace pensar que el tálamo es esencial en las funciones cerebrales superiores en las que participan estas cortezas. Lesiones del tálamo por infartos, tumores o traumatismos provocan déficits cognitivos, como alteraciones de la memoria y de las funciones ejecutivas (revisado en Van der Werf y cols., 2000).

Más específicamente, tras lesiones talámicas aparecen alteraciones cognitivas similares a las que se producen por lesión de la corteza prefrontal. Aunque probablemente están alterados aspectos comportamentales (de forma similar a la moria frontal), lo que más se ha estudiado son los déficits ejecutivos, relativos a la memoria operativa, que son más fáciles de evaluar mediante tests. Los núcleos de la línea media y los intralaminares, además del MD, parecen estar implicados en la sintomatología “frontal” tras lesión del tálamo.

La lesión del tracto mamilotálámico provoca un síndrome amnésico anterógrado, en el que probablemente también están implicados los núcleos anteriores. En pacientes con lesiones talámicas que no afecten al tracto mamilotálámico se pueden ver otro tipo de problemas de memoria, en los que se cree que participan los núcleos de la línea media, los núcleos anteriores, y tal vez el núcleo MD.

1.2.2. Tálamo y sistema motor

Los ganglios basales son esenciales para el control del movimiento voluntario. Su lesión produce alteraciones motoras conocidas clásicamente como síndrome extrapiramidal, caracterizado por movimientos involuntarios, rigidez muscular e inmovilidad sin parálisis (Kandel y cols., 2000). El sistema piramidal (corticoespinal y corticonuclear) trabaja en íntima colaboración con el sistema extrapiramidal, así como con otros centros motores del cerebro, como el cerebelo o el núcleo rojo. Los cuatro componentes de los ganglios basales son: el neostriado (núcleo caudado y putamen), el globo pálido, la sustancia negra y el núcleo subtalámico. Los ganglios basales ejercen su función controlados por la corteza cerebral. El neostriado recibe información desde la corteza y, desde ahí, se organizan dos vías paralelas: la directa y la indirecta, que tienen acciones antagónicas sobre el movimiento, que pasan por el tálamo y de ahí de nuevo a la corteza (Kandel y cols., 2000, Herreo y cols., 2002). Las porciones del tálamo conectadas con los ganglios basales (VAmc, VAp, VAdc, MD, VL y centromediano

parafascicular [CnMd-Pf]) proyectan a la corteza motora suplementaria fundamentalmente. Por tanto, los núcleos “motores” del tálamo tienen una posición importante en el circuito ganglios basales-corteza cerebral.

Además de su función en los circuitos de los ganglios basales, el tálamo está también implicado en el procesamiento sensoriomotor en colaboración con la corteza cerebral. La visión actual de los mecanismos de interacción sensorimotora en el tálamo y la corteza cerebral se basa en un modelo transtalámico en el que existe un flujo de información entre las distintas cortezas asociativas a través del tálamo, donde esta información está sujeta a modulación (Sherman y Guillery, 2006). Los *driver inputs* desde capa V a los núcleos asociativos del tálamo relacionados con el procesamiento sensoriomotor envían otra colateral descendente hacia centros motores del tronco del encéfalo y la médula espinal. Esta colateralización tiene dos posibles funciones no excluyentes: en primer lugar, informa a centros motores del procesamiento perceptual en los circuitos córtico-talámicos (la colateral descendente); en segundo lugar, informa al tálamo de la orden motora enviada a centros inferiores, actuando el tálamo como un “monitor” de la actividad motora, que informará de vuelta a la corteza y modulará la actividad cortical (Sherman y Guillery, 2006).

1.3. El núcleo dorsomediano (MD)

Es uno de los núcleos más grandes del tálamo dorsal y el principal núcleo del grupo nuclear medial. Está intensamente conectado con la corteza prefrontal, aunque también tiene conexiones con el neocórtex (Parent y cols., 1983) y el núcleo *accumbens* (Giménez-Amaya y cols., 1995).

El MD es un núcleo asociativo y, como tal, está muy desarrollado en primates, paralelamente al gran desarrollo de la corteza prefrontal. Clásicamente se han reconocido cuatro partes en el MD, la región medial o magnocelular, la región lateral o parvocelular, la región paralamina o multiforme, y la región posterior o densocelular. Nosotros utilizamos otra nomenclatura, basada en estudios histoquímicos y conectivos del MD realizados en nuestro laboratorio, en la que reconocemos un sector medial (MDm), equivalente al sector magnocelular, un sector lateral (MDl), equivalente a las regiones parvocelular y multiforme, un sector ventral (MDv), que incluye la región ventral de MD magnocelular y MD parvocelular, y un sector posterior (MDp), formado

por MD densocelular y la región más caudal de MD magnocelular (Compañy, 1994; Cavada y cols., 1995).

La diana fundamental del MD es la corteza prefrontal. En el macaco el MDm está conectado principalmente con la corteza prefrontal orbital, el MDv y la porción adyacente del MDl están conectados con la corteza prefrontal ventrolateral y dorsolateral, y el MDp proyecta a la corteza prefrontal incluyendo el área orbitofrontal, lateral y medial (Goldman-Rakic y Porrino, 1985; Cavada y cols., 2000). El sector MDl tiene las mayores conexiones corticales, pues además de con la corteza prefrontal dorsolateral, está conectado con cortezas motoras y premotoras, y con cortezas parietales asociativas (Cavada y cols., 2000; Barbas y cols., 1991).

Existe gran diversidad en las aferencias subcorticales del MD. Su sector medial recibe principalmente proyecciones de estructuras límbicas como la amígdala y el prosencéfalo basal. Sus sectores lateral, ventral y posterior, además de aferencias límbicas del hipotálamo y del prosencéfalo basal, reciben importantes aferencias de estructuras motoras, como la sustancia negra *pars reticulata* (SNr), el globo pálido medial (GPM) y los núcleos profundos del cerebelo. Además, también reciben proyecciones termoalgésicas de la médula espinal y proyecciones de estructuras involucradas en otros procesamiento sensoriales, como el colículo superior y la sustancia gris periacueductal (PAG) (Apkarian, 1989; Kalil, 1981; Rouiller, 1994).

1.4. Los núcleos ventrales

Como se ha comentado anteriormente, el grupo de núcleos ventrales incluye el ventral anterior (VA), ventral lateral (VL) y el ventral posterior (VP). Los núcleos VA y VL forman parte del tálamo motor, junto con el núcleo MD y el CnMd-Pf. Muy específicamente, el núcleo VA recibe proyecciones de los ganglios basales y de la corteza cerebral y proyecta de forma difusa a la corteza motora y los ganglios basales. El núcleo VL recibe una gran proyección desde los núcleos profundos del cerebelo y proyecta a la corteza motora primaria.

El núcleo VA de los primates está compuesto por tres subdivisiones: magnocelular (VAmc), parvocelular (VApc) y densocelular (VAdc), de acuerdo con la nomenclatura

de Ilinsky y Kultas-Ilinsky (1987). VAdc se corresponde prácticamente con la *pars oralis* del núcleo ventral lateral (VLo) según la parcelación de Olszewski (1952).

La subdivisión VAmc es la mayor receptora de las proyecciones nigrotalámicas, en concreto recibe una proyección específica de la *pars reticulata* de la sustancia negra (SNpr) (Carpenter y cols., 1976; Ilinsky y Kultas-Ilinsky, 1990). Además de la aferencia nigral, VAmc recibe aferencias desde el colículo superior (Harting y cols., 1980). Con respecto a la corteza, las conexiones más importantes de VAmc son con áreas frontales, en particular con el campo ocular frontal (Künzle y Akert, 1977; Ilinsky y cols., 1985). Por tanto, este núcleo está involucrado en el comportamiento motor complejo, incluyendo la función oculomotora.

Dentro de la región anterior del tálamo dorsal del mono rhesus, las aferencias desde el GPM terminan en dos subdivisiones del VA: VApC y VAdC (Ilinsky y Kultas-Ilinsky, 1987). VAdc es la más grande de dichas subdivisiones y difiere de VApC en el tamaño y los patrones de distribución de las células nerviosas (Ilinsky y Kultas-Ilinsky, 1987; Ilinsky y cols., 1993). En términos de tamaño, citoarquitectura, y conexiones, las dos subdivisiones pueden corresponder a una región incluso mayor del tálamo humano que se conoce como el núcleo *ventralis oralis anterior* (Voa) y que recibe aferencias palidales (Hassler y cols., 1979).

El gran tamaño del territorio con conexiones aferentes palidales en el tálamo del mono sugiere que la conexión desde los ganglios basales es de vital importancia en los primates. Esto es a su vez coherente con la especialización funcional de las vías eferentes de los ganglios basales en los primates: la vía eferente palido-talámica está relacionada mayormente con el movimiento de las extremidades, mientras que la vía nigrotalámica está relacionada preferentemente con el movimiento de la cabeza, cuello ojos y el control de la musculatura proximal (Georgopoulos y cols., 1983, DeLong y cols., Anderson y Turner, 1991; Vitek y cols., 1994).

Las conexiones tálamo-corticales desde la región ventral del tálamo que recibe aferencias palidales son de tres tipos: corteza premotora dorsolateral, corteza premotora mesial, también conocida como área motora suplementaria, y la corteza motora primaria. Todas estas cortezas proyectan directamente a la médula espinal e

indirectamente al cerebelo y, por tanto, influyen en la función motora y el comportamiento motor complejo.

La contribución del tálamo dentro de la vía pálido-tálamo-cortical al procesamiento de la información que le llega desde el pálido es poco conocida. Se conoce que la aferencia pálido-talámica es inhibitoria (Uno y cols., 1978), y es llamativa la ausencia de regiones talámicas estrictamente homólogas a VAdc y VApC en otros mamíferos no primates (Kultas-Ilinsky y cols., 1997).

Por otro lado, el núcleo VL tiene también una citoarquitectura característica y recibe proyecciones cerebelosas fundamentalmente. Jones (2008), basándose en su citoarquitectura y conexiones, establece dos únicas subdivisiones en el VL: VLa o subdivisión anterior y VLp o subdivisión posterior. El VLa equivale al VLo o subdivisión oral de Olszewski (1952) y recibe proyecciones desde el globo pálido medial, a la vez que proyecta, preferentemente, al área motora suplementaria y, en menor medida a las cortezas motora primaria y premotora lateral (Ilinsky y cols., 1985). Dentro del VLp de Jones (1998) existen diferencias citoarquitectónicas notables, que llevan a Olszewski (1952) a distinguir cuatro subdivisiones en vez de una sola: ventral lateral caudal (VLC), ventral lateral *pars postrema* (VLps), área X y ventral posterolateral porción oral (VPLo). Todas estas subdivisiones tienen en común ser el área de terminación de las proyecciones cerebelosas (Asanuma y cols., 1983). Las subdivisiones definidas por Olszewski (1952) dentro del VLp tienen su correlato conectivo en sus proyecciones sobre las cortezas motoras. Así, la corteza motora primaria recibe una innervación masiva desde el núcleo VPLo, mientras que la corteza premotora lateral es inervada preferentemente por el área X y el VLo (Schell y Strick, 1984; Ilinsky y cols., 1985; Matelli, 1989).

Las aferencias cerebelosas que recibe el VL proceden de los núcleos profundos del cerebelo, y se denominan axones dentado-talámicos, fastigio-talámicos e interposito-talámicos (Kultas-Ilinsky e Ilinsky, 1991). Las fibras dentado-talámicas se distribuyen en toda la extensión de VLp, mientras que las fibras fastigio e interposito-talámicas se distribuyen de una manera parcheada dentro de las mismas regiones (Ilinsky y Kultas-Ilinsky 1987). Se ha observado una cierta organización topográfica en las fibras fastigiales, que terminan en regiones más mediales que las del núcleo interposito. Sin embargo, ninguna de estas fibras cerebelo-talámicas sigue los límites de las

subdivisiones de Olszewski (1952). La ausencia de correlación topográfica y citoarquitectura relativamente homogénea de las aferencias cerebelosas del tálamo, ha llevado a algunos autores a considerar a todo el núcleo VL como el territorio cerebeloso del tálamo, mientras que el VA se ha considerado el territorio de proyección de los ganglios basales (Ilinsky y Kultas-Ilinsky, 1987).

De los tres núcleos profundos del cerebelo, el dentado es el que tienen un desarrollo máximo en primates y es responsable del gran tamaño del cerebelo en el curso de la evolución homínida (Passingham, 1975). Se piensa que la región ventrolateral del núcleo dentado es, desde el punto de vista evolutivo, la más joven (Dow, 1942; Angaut y Cicirata, 1990, 1994), y esta región más nueva es la predominante en el humano (Dow, 1942). Las conexiones de esta región del núcleo dentado no son bien conocidas, aunque se cree que están conectadas con las áreas del lenguaje del lóbulo frontal (Leiner y cols., 1993). Se ha sugerido que las proyecciones cerebelo-tálamo-corticales desde la región ventral del núcleo dentado conectan preferentemente con áreas de la corteza prefrontal, mientras que aquellas desde su región media y dorsal se dirigen hacia la corteza premotora y motora primaria, respectivamente (Middleton y Strick, 1997; Hoover y Strick, 1999). Estos y otros estudios (Rispol-Padel, 1993) sugieren que algunas partes del núcleo dentado pueden estar implicadas en los aspectos “cognitivos” de las aferencias motoras.

2. ULTRAESTRUCTURA DEL TÁLAMO

Con el microscopio electrónico se puede observar que existe una estructura “genérica” presente en todos los núcleos talámicos de los primates. Al observar una sección de los núcleos del tálamo a baja magnificación, se visualizan primariamente haces de axones mielinizados que representan los axones aferentes y eferentes, vasos sanguíneos, células gliales, somas neuronales con relativamente pocos contactos sinápticos en su superficie, muchos perfiles dendríticos que reciben bastantes contactos sinápticos y áreas de múltiples perfiles sinápticos agrupados que reciben el nombre de “glomérulo” (Figura 3), donde estructuras de diferentes tipos hacen contactos sinápticos especializados con otras (Sherman y Guillery, 2006).

2.1. Ultraestructura de las neuronas

Las neuronas de proyección poseen un soma de gran tamaño (Figura 4), por ejemplo, en el núcleo VL del macaco, su área oscila entre 200 y 800 μm^2 (Kultas-Ilinsky e Ilisky, 1991). La mayoría tiene un núcleo excéntrico, con diferentes nucleolos, y una gran cantidad de retículo endoplásmico rugoso (RER), en parte organizada en forma de cuerpos de Nissl. La envoltura nuclear a menudo muestra profundas indentaciones. Las dendritas que se originan en el perikarion son de diámetro grande y se denominan dendritas primarias. Las dendritas van ramificándose en otras cada vez más pequeñas, denominándose dendritas secundarias y terciarias. Las dendritas de las neuronas de proyección no poseen vesículas (Kultas-Ilinsky y cols., 1997).

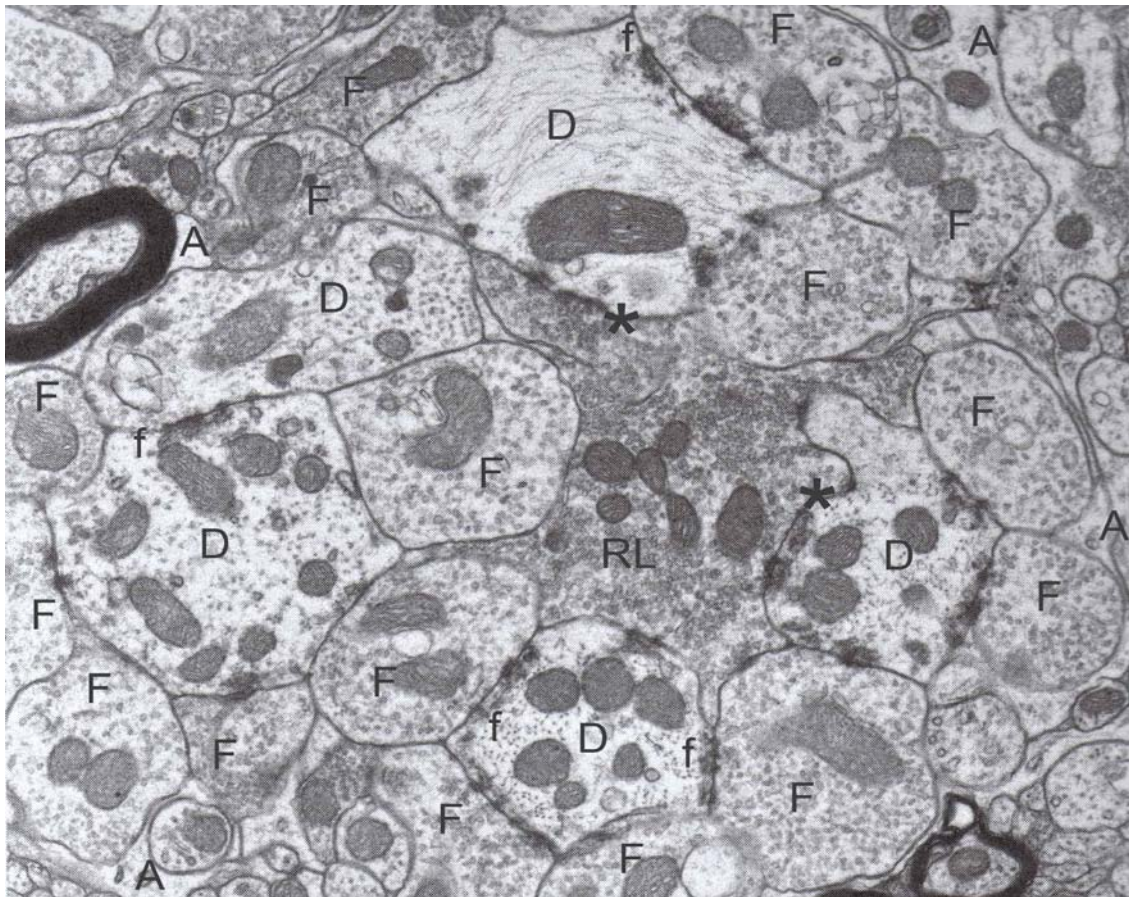


Figura 3. Fotomicrografía electrónica de un glomérulo sináptico del núcleo geniculado lateral del gato, modificada de Sherman y Guillery, 2006. El elemento central es un terminal glutamatérgico grande (RL). Los terminales más abundantes son los tipo F (terminales GABAérgicos con vesículas aplanadas) y los RL. Las dendritas (D) de las neuronas de proyección son los elementos postinápticos más frecuentes. Los asteriscos muestran las sinapsis asimétricas que se establecen entre el terminal RL y las dendritas (D). También se observan contactos filamentosos o tipo puncta adherencia (f). Toda la estructura está rodeada por citoplasma glial astrocitario (A).

Las interneuronas intrínsecas poseen un soma de menor tamaño que el de las neuronas de proyección. Por ejemplo, en el núcleo VL del macaco su área oscila entre 100 y 200 μm^2 (Kultas-Ilinsky e Ilinsky, 1991). Además, poseen dendritas de menor longitud con menos ramificaciones. Es característica su pequeñísima cantidad de citoplasma, su gran número de polirribosomas y la ausencia virtual de RER organizado (Figura 5a). Otra característica distintiva es su diámetro irregular y el curso tortuoso de sus dendritas primarias. A diferencia de las neuronas de proyección, las ramas dendríticas primarias de las interneuronas contienen muy pocos microtúbulos, pero gran número de polirribosomas. Las ramas dendríticas primarias poseen vesículas sinápticas dispersas, mientras que en el soma las vesículas se encuentran en racimos. Las ramas dendríticas secundarias a menudo tienen un curso relativamente recto. Cuando se seccionan de manera longitudinal presentan un gran número de microtúbulos dispuestos de manera ordenada. Ocasionalmente, se observan partes más anchas con vesículas sinápticas en racimos y algunas mitocondrias a lo largo de su curso. Las dendritas distales de las interneuronas se caracterizan por un diámetro irregular y un curso tortuoso. Son habitualmente muy finas, mostrando algunos grupos de vesículas dispersas, y dando lugar incluso a ramas más finas repletas de vesículas (Ilinsky y cols., 1991b) (Figura 5b).

Como se ha comentado anteriormente (apartado 1.1.3.) La proporción de interneuronas y otras células varía considerablemente según la especie y el núcleo talámico estudiado (Arcelli y cols., 1997). Mientras que en el tálamo del macaco las interneuronas suponen el 24-35% de las neuronas (Clark y cols., 1989; Montero y Zempel 1986; Hendry 1991; Hunt y cols., 1991), el tálamo de la rata muestra casi una ausencia de las mismas (Ottersen y Storm-Mathisen, 1984).

Las porciones terminales de las dendritas de las interneuronas difieren considerablemente de las de las neuronas de relevo. Mientras que las dendritas de las neuronas de relevo se van estrechando conforme nos acercamos a su extremo distal y tienen un patrón de ramificación sencillo, las partes terminales de las dendritas de las interneuronas son más complejas, tienen un patrón de ramificación terminal relativamente rico y forman terminales con vesículas similares a las observadas en los axones en la mayoría del cerebro. Estas dendritas se han descrito, por tanto, como “axoniformes” (Figura 5b). El término se justifica por los hallazgos de microscopía

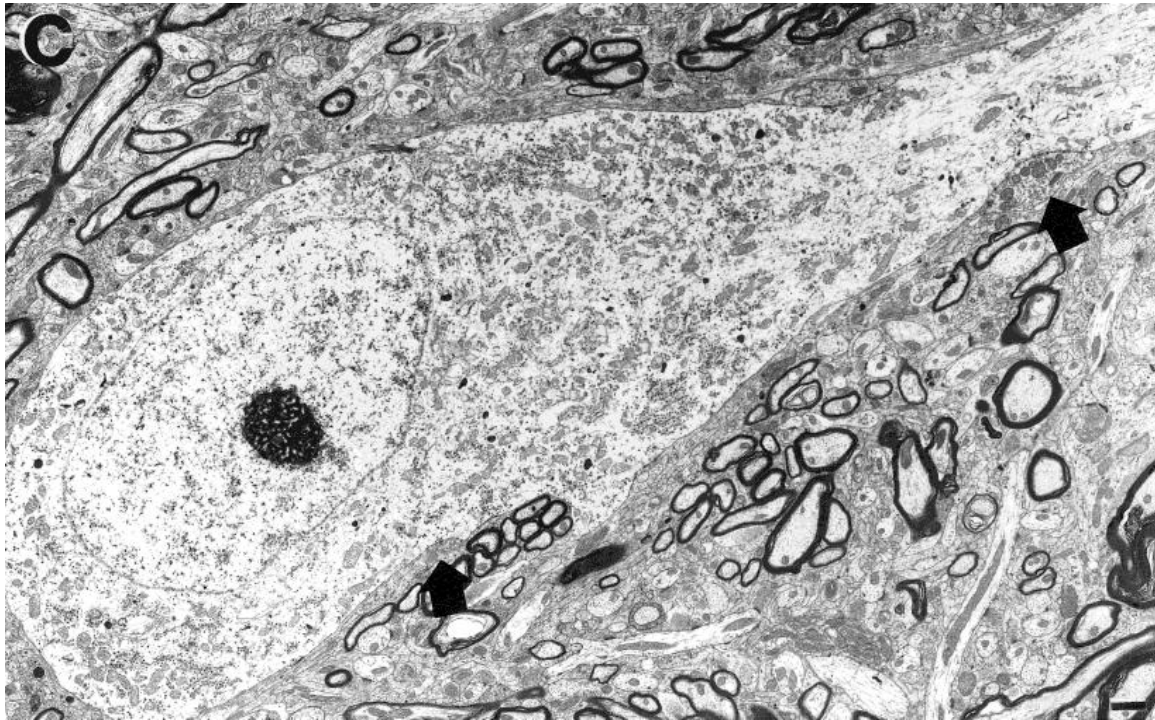


Figura 4. Fotomicrografía electrónica que ilustra el soma de una neurona de proyección del núcleo VAdc de macaco (VLo según Olszewski, 1952) tomada de Ilinsky y cols. (1991b). Nótese la posición excéntrica del núcleo, el abundante citoplasma y la organización del retículo endoplásmico rugoso en el mismo. Las flechas muestran botones axosomáticos. Barra de calibración = 1µm

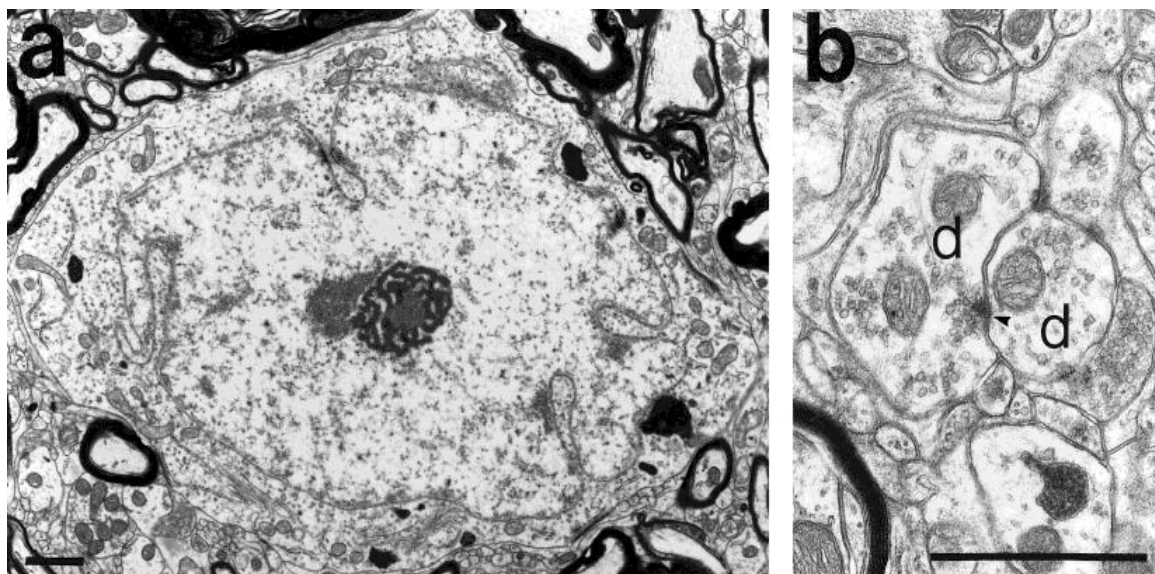


Figura 5. Fotomicrografía electrónica tomada de Ilinsky y cols., (1991b) que muestra el soma y las dendritas de una interneurona. El soma de la interneurona (a) muestra una pequeña cantidad de citoplasma que contiene abundantes ribosomas y aparato de Golgi, y una mínima cantidad de retículo endoplásmico rugoso. La imagen b muestra una sinapsis dendrodendrítica (cabeza de flecha) entre dos dendritas que contienen vesículas, es decir, las denominadas dendritas presinápticas.

electrónica que muestran que los terminales de las dendritas que contienen vesículas sinápticas realizan contactos sinápticos especializados con otras células, de la misma manera que ocurre con los axones clásicos (Peters, 1991). También existe evidencia

farmacológica que demuestra que estas terminales dendríticas producen potenciales postsinápticos inhibitorios en las neuronas de relevo (Govindaiah y Cox, 2004). Es decir, aunque ellas son dendritas y sirven como elementos postsinápticos para los axones de las aferencias primarias u otros axones, muchos de estos perfiles terminales tienen también la estructura y función de axones y son elementos *presinápticos* para las dendritas de las neuronas de proyección.

2.2. Terminales sinápticos

Dentro del glomérulo, y también en el neuropilo extraglomerular hay diferentes tipos de terminales sinápticas, cuyo origen talámico o extratalámico ha sido identificado mediante estudios experimentales. Algunas terminales contienen vesículas sinápticas redondeadas, llamadas perfiles tipo R (del inglés *Round vesicles*); otras contienen vesículas aplanadas, llamadas perfiles tipo F (del inglés *Flattened vesicles*), o pleomórficas. Mediante técnicas inmunohistoquímicas se ha podido comprobar que tanto en el tálamo como en otras regiones del cerebro de mamífero, los perfiles F son todos GABAérgicos, mientras que la mayoría de los perfiles R son glutamatérgicos (Sherman y Guillery, 2006).

Existen principalmente dos tipos de perfiles R, en función de su tamaño y otras muchas variables, llamados RL (*Round vesicles and Large terminals*) y RS (*Round vesicles and Small terminals*). Estos dos tipos difieren en el tipo de sinapsis que hacen, su origen extratalámico y, a veces, en el tipo de neurotransmisor que utilizan. Los perfiles RL representan las aferencias tipo *driver input* del tálamo y se ven característicamente dentro del glomérulo, aunque también pueden encontrarse en regiones extraglomerulares. Los terminales RL y RS realizan sinapsis asimétricas (Gray, 1959), es decir, aquellas en las que el engrosamiento postsináptico es mayor que el presináptico por lo que, presumiblemente, todas estas sinapsis son excitatorias. También se ha descrito que los terminales RL establecen contactos tipo desmosoma (*desmosoma-like*) e incluso uniones filamentosas (*filamentous junctions*) con dendritas adyacentes (Guillery, 1967; Lieberman y Spacek, 1997). Tanto en los núcleos talámicos primarios como en los de asociación, los elementos postsinápticos de las aferencias RL suelen ser dendritas de interneuronas (perfiles F2, ver más adelante) y dendritas de neuronas de proyección, formando tríadas. Es de esperar que las aferencias RL de los núcleos

asociativos provengan de la capa V de la corteza cerebral, aunque sólo hay evidencias indirectas en el MD del mono (Schwartz y cols., 1991).

Los terminales RS representan una población de aferencias moduladoras mixta, con origen en la corteza y en el tronco del encéfalo. Teóricamente todos los terminales con origen en el tronco pueden encontrarse también en regiones glomerulares. Los perfiles RS con origen en la corteza cerebral representan las sinapsis *en passant* y la porción terminal de las ramas en “palillo de tambor” de los axones tipo I (axones de las aferencias corticales de los núcleos de relevo, Guillery, 1966). Estas aferencias provienen de las neuronas piramidales de la capa VI de la corteza cerebral, aunque su origen adicional en la capa V no puede excluirse totalmente.

Se han identificado dos tipos de perfiles F, los F1 y F2. Los primeros representan axones que provienen de las neuronas del núcleo reticular del tálamo, axones de interneuronas intrínsecas y, en algunos núcleos, otras aferencias GABAérgicas extrínsecas. Los terminales F2 representan los procesos dendríticos axoniformes de las interneuronas. Los terminales F1 y F2 no son distinguibles por su tamaño, pero, mientras que los F1 nunca son postsinápticos a otro proceso, los F2 lo son con frecuencia. Los terminales F2 suelen denominarse dendritas presinápticas (PSD, del inglés *presynaptic dendrite*) porque, a la vez que son postsinápticas a uno o varios axones, son el elemento presináptico de otro perfil, habitualmente otra dendrita (Figura 5b). Las dendritas presinápticas son las únicas dendritas que contienen vesículas sinápticas y todas ellas corresponden a interneuronas intrínsecas (Rapisardi y Miles, 1984; Wilson y cols., 1996; Hamos y cols., 1985). Los axones reticulo-talámicos forman terminales con vesículas aplanadas que pertenecen al perfil F1. Estos perfiles con origen en el núcleo reticular terminan formando sinapsis simétricas axodendríticas extraglomerulares. En la figura 7 se muestran algunos ejemplos de terminales en el núcleo VAdc del tálamo del macaco.

Esta clasificación de los terminales sinápticos del tálamo tiene algunas imprecisiones, ya que es muy difícil conocer con exactitud el origen de cada perfil. En la actualidad existe el acuerdo de considerar a todos los terminales RL como los *driver inputs* de un núcleo talámico en particular. Por ejemplo, se ha visto que es razonable tratar a todos los RL del núcleo geniculado lateral como terminales provenientes de la retina, pero algunos podrían provenir del *tectum* o posiblemente, según los estudios de microscopía

óptica, algunos podrían tener un origen distinto. Al igual que los terminales RS pueden tener un doble origen, cortical o del tronco del encéfalo, el resto de perfiles podrían también tenerlo, por tanto hay que destacar que esta clasificación es orientativa y que se requieren más estudios con microscopia electrónica para establecer una clasificación exacta (Sherman y Guillery, 2006).

2.2.1. Los terminales RL

Los perfiles RL realizan sinapsis asimétricas en los tallos dendríticos, los cuales están entre los perfiles dendríticos de mayor tamaño y, además, se localizan cerca del soma

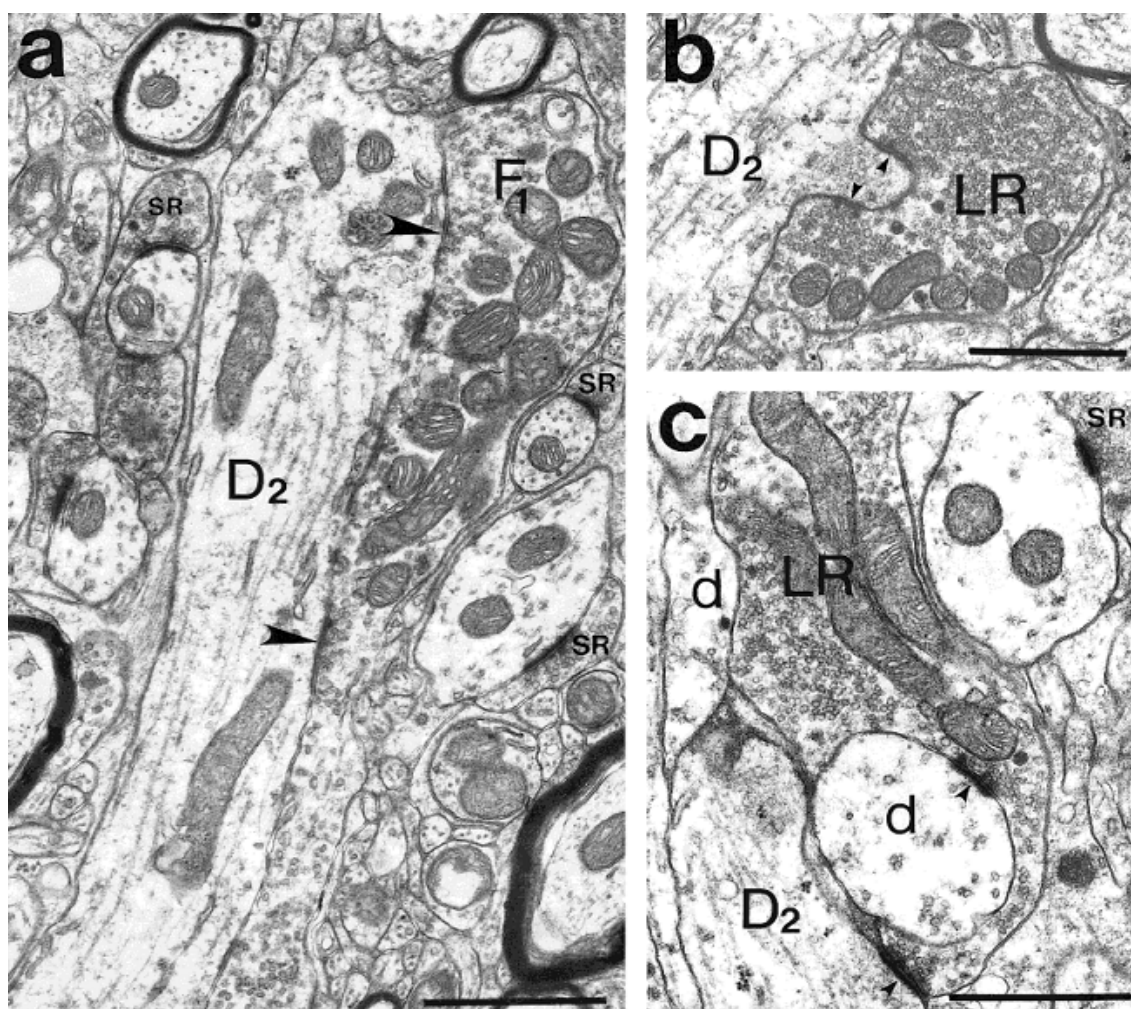


Figura 7. Micrografía electrónica que muestra varios ejemplos de terminales en el núcleo VAdc (VLo según Olszewsky, 1952) del tálamo del macaco. (a): visión de un terminal F1 grande (F1) cortado longitudinalmente que forma un contacto sináptico de tipo simétrico (cabeza de flecha) sobre un segmento de una dendrita secundaria (D2). Alrededor del neuropilo circundante se observan varios terminales RS (SR) formando contactos sinápticos de tipo asimétrico. (b): un ejemplo de un terminal tipo RL (LR), que es de gran tamaño, contiene vesículas redondas y realiza dos sinapsis asimétricas (cabezas de flecha) sobre una pequeña protrusión de una dendrita secundaria (D2). (c): otro ejemplo de terminal RL (LR). En este caso la densidad postsináptica (cabeza de flecha) es más macada en el caso b, y es similar a la que muestran los terminales RS (SR) de la imagen a.

neuronal de una neurona de proyección. También contactan con dendritas de las interneuronas y, muy raramente, con somas neuronales.

La asimetría de las uniones sinápticas realizadas por los RL, denota una función excitatoria. Como se ha comentado anteriormente, Gray (1959), en un estudio de la ultraestructura de la corteza cerebral, caracterizó las uniones sinápticas como simétricas o asimétricas según el engrosamiento de la especialización postsináptica, el cual refleja la naturaleza de su receptor en la unión sináptica (Cowan y cols., 2002). El ser “asimétrica” significa que el engrosamiento postsináptico es mucho más pronunciado que el presináptico, y el ser “simétrica” significa que el engrosamiento pre y postsináptico son similares. Colonnier (1968) mostró que las uniones asimétricas estaban generalmente asociadas con vesículas redondas en el elemento presináptico y que las uniones asimétricas estaban asociadas con vesículas aplanadas.

Hay algunas diferencias en cuanto a la parte de la neurona de relevo con la que los terminales RL se relacionan: no solo hay una variación dentro de cada núcleo del tálamo, sino que hay también una diferencia sistemática entre núcleos e incluso entre capas del núcleo geniculado lateral (Kultas-Ilinsky e Ilinsky, 1991; Feig y Harting, 1994). Por ejemplo, en las capas magnocelular y parvocelular de este núcleo en los primates, los terminales RL se encuentran a menudo cerca del soma neuronal, mientras que en las capas coniocelulares se encuentran más alejadas del cuerpo celular (Guillery y Colonnier, 1970; Feig y Harting, 1994).

Los terminales RL establecen tríadas en los glomérulos. Como se ha comentado previamente, una tríada se establece cuando un terminal RL es presináptico a dos perfiles adyacentes, uno es una dendrita de una neurona de relevo y el otro un terminal F2. El terminal F2 a su vez es presináptico a la misma dendrita (Figura 2). Ésta es la composición clásica de una tríada y, en la mayoría de los ejemplos que se han documentado del tálamo, comprende a un terminal RL como el elemento sináptico común. Las tríadas que comprenden a los perfiles RS como el elemento presináptico común se considerarán en el siguiente apartado. Los perfiles RL se denominan presinápticos porque contactan con los terminales F2, que son los procesos dendríticos axoniformes de las interneuronas, y también con las dendritas de las neuronas de relevo. Sin embargo, mientras que las interneuronas reciben el *driver input* desde la retina primariamente en la región distal del apéndice de la dendrita presináptica, la neurona de

proyección recibe su aferencia en las dendritas proximales. Los terminales RL forman algunos contactos en el tallo de las dendritas de las interneuronas (Hamos y cols., 1985; Weber y cols., 1989; Montero, 1991; Wilson y cols., 1996; Van Horn y cols., 2000), y funcionalmente esos dos tipos de contactos tienen probablemente acciones muy distintas (Cox y cols., 1998; Cox y Sherman, 2000). Los contactos sinápticos sobre las PSD pueden bien actuar localmente sobre procesos dendríticos individuales, mientras que los contactos en el tallo de las dendritas cerca del soma celular producen más probablemente potenciales de acción capaces de despolarizar el axón y afectar a partes de las arborizaciones dendríticas de las interneuronas (Sherman y Guillery, 2006).

2.2.2. Los terminales RS

Los terminales RS son de menor tamaño que los RL en las secciones simples y las reconstrucciones, sin aparente solapamiento entre ellos. En los estudios del núcleo geniculado lateral del gato, los cortes seriados muestran que no existe solapamiento entre los terminales RS y RL (Van Horn y cols., 2000). En el macaco, los estudios ultraestructurales de núcleos talámicos asociativos y motores, muestra que los axones RS y RL son poblaciones diferenciadas de terminales, con diferente tamaño y frecuencia de aparición en los diversos núcleos (Schwartz y cols., 1991; Ilinsky y Kultas-Ilinsky, 1990; Ilinsky y cols., 1991; Kultas-Ilinsky e Ilinsky, 1990; Kultas-Ilinsky e Ilinsky, 1991). Las vesículas están generalmente más agrupadas en los RS que en los RL. Los terminales RL realizan múltiples contactos sinápticos en las secciones simples, mientras que esto no ocurre con los RS. Los terminales RS no muestran contactos filamentosos y poseen mitocondrias oscuras, mientras que las de los RL son pálidas. En términos de impresión visual general y del volumen ocupado, los perfiles RL dominan en el glomérulo, mientras que los RS son más escasos. Sin embargo, como los terminales RS son significativamente más pequeños que los RL, tienen más posibilidades de ser cortados, por lo que la impresión visual no puede ser representativa de las relaciones numéricas, que se consideran aparte más abajo.

Las únicas fuentes demostradas de terminales RS son la corteza y el tronco del encéfalo. En el núcleo geniculado lateral del gato, los terminales RS corticales contactan con dendritas periféricas relativamente pequeñas de las neuronas de relevo y ramas dendríticas de las interneuronas (Wilson y cols., 1984; Weber y cols., 1989; Montero, 1991; Erişir y cols., 1997). Ambos tipos de terminales RS (de la corteza y del

troncoencéfalo) contactan con ramas dendríticas de interneuronas, pero los que tienen origen en el troncoencéfalo son los más abundantes y, probablemente, el único tipo de terminal RS que contacta con los procesos axoniformes distales (F2) de las interneuronas. De manera ocasional puede observarse un terminal RS cortical contactando con las PSD (Vidnyánszky y Hamori, 1994; Erişir y cols., 1997).

2.2.3. Los terminales F: F1 y F2

Los terminales F1 se originan en los axones de las células reticulo-talámicas y de las interneuronas. Además, cuando las aferencias GABAérgicas del tálamo tienen otras fuentes, éstas tienen la forma de terminal F1. Los perfiles F2 son terminales dendríticos axoniformes de interneuronas y, más raramente, los tallos de las dendritas de dichas interneuronas. Los axones reticulo-talámicos forman terminales F1 de tamaño medio. En el núcleo geniculado lateral del gato, F1 y F2 tienen un tamaño similar pero difieren en otros aspectos, principalmente en que los terminales F2 son tanto presinápticos como postsinápticos, mientras que los F1 son estrictamente presinápticos. En el núcleo geniculado lateral de la rata, los terminales F1 del núcleo reticular talámico forman sinapsis axodendríticas, simétricas y extraglomerulares (Montero y Scott, 1981). Igualmente, en el gato, los terminales F1 contactan principalmente neuronas de relevo, terminan predominantemente fuera del glomérulo: aproximadamente en un 90% están junto a segmentos dendríticos periféricos que reciben las aferencias RS corticales, y sólo un 10% están en los segmentos dendríticos más proximales que reciben las aferencias RL de la retina (Cucchiari y cols., 1991; Wang y cols., 2001).

Otras fuentes de terminales F1 en el núcleo geniculado lateral incluyen axones de interneuronas y axones GABAérgicos que inervan dicho núcleo y se originan en el *pretectum* (Montero, 1987; Cucchiari y cols., 1993).

2.2.4. Otros tipos de terminales

Otros tipos de terminales son más escasos: noradrenérgicos desde la región parabraquial, serotoninérgicos desde el núcleo dorsal del rafe, e histaminérgicos desde el núcleo tuberomamilar del hipotálamo. Estos terminales tienen la apariencia general de los RS descritos previamente, aunque no siempre sea así. De hecho, un estudio de la inervación colinérgica del núcleo MD del macaco mostró que los terminales inmunorreactivos para acetilcolina eran de diferentes tipos, predominando los LR (Schwartz y Mrzljak, 1993).

Mientras al menos alguno de los terminales moduladores puede terminar en sinapsis convencionales, otros podrían no hacerlo así (de Lima y Singer, 1987; Wilson y cols., 1999), sino que liberarían el neurotransmisor en el espacio extracelular para actuar en los receptores apropiados más cercanos. Entre estos terminales podrían estar los dopaminérgicos ya que la DA, una vez liberada, difunde a través del neuropilo para actuar sobre neuronas y células gliales vecinas, lo que se denomina la “transmisión volumétrica” (Nicholson y Rice, 1991, Zoli y cols., 1998).

2.3. El glomérulo y la tríada

Como se ha comentado anteriormente, los glomérulos son regiones del tálamo donde se agrupan entramados sinápticos complejos que están envueltos en finas capas formadas por expansiones del citoplasma de astrocitos. Esta envoltura astrocitaria actuaría como barrera de difusión, previniendo la difusión pasiva de material desde el exterior o el interior del glomérulo (Figura 3). Como se ha comentado anteriormente, una tríada se establece cuando un terminal RL es presináptico a dos perfiles adyacentes, uno es una dendrita de una neurona de relevo y el otro un terminal F2. El terminal F2 a su vez es presináptico a la misma dendrita (Figura 2). Ésta es la composición clásica de una tríada y, en la mayoría de los ejemplos que se han documentado del tálamo, comprende a un terminal RL como el elemento sináptico común.

La complejidad de un glomérulo puede variar enormemente entre las especies, siendo mucho más simple en la rata que en el gato o el macaco. En el núcleo geniculado lateral del gato, donde se han realizado varios estudios de reconstrucciones a partir de cortes seriados (Wilson y cols., 1984; Hamos y cols., 1986, Van Horn y cols., 2000), los glomérulos siempre incluyen al menos una tríada y, además, al menos un terminal F2 y uno RL. Se conoce peor en otros núcleos talámicos aunque, como veremos más adelante, los estudios ultraestructurales en tálamo de macaco así lo señalan. Sería esperable que estas organizaciones sinápticas no estuvieran presentes en especies que carecen de interneuronas en el tálamo (i.e., núcleos del tálamo del ratón y la rata aparte del núcleo geniculado lateral; Arcelli y cols., 1997). Sin embargo, no se han realizado estudios sistemáticos para demostrar si cada glomérulo contiene al menos un perfil RL. Sí parece que es la norma en el núcleo geniculado lateral del gato, como se ha comentado previamente, donde un perfil RL se rodea de varios F2 de interneuronas y, posiblemente, de algún F1 también derivado de interneuronas. Sin embargo, esto puede

no ser la regla general. Kultas-Ilinsky e Ilinsky (1991) observaron en el núcleo ventral lateral del mono que aproximadamente un 25% de los somas neuronales eran de interneuronas, pero que las formaciones glomerulares y las tríadas eran muy escasas en este núcleo. Una comparación detallada de este núcleo con otro como el geniculado lateral de la misma especie podría aportar valiosa información sobre la distribución exacta de las interneuronas, la distribución de sus dendritas o la conectividad sináptica de las estructuras relevantes que producen la diferencia comentada previamente.

En áreas del sistema nervioso central carentes de glomérulos, como en la corteza cerebral, la capa molecular de la corteza cerebelosa o zonas no glomerulares del tálamo, cada sinapsis posee casi invariablemente una lengua de citoplasma astrocitario a cada lado de la hendidura sináptica. Sin embargo, en el glomérulo, la sinapsis está a distancia del citoplasma astrocítico, que sólo lo envuelve en su periferia. Por tanto, se ha postulado que, por un lado, la membrana astrocítica que rodea al glomérulo esté participando en la función de difusión de sustancias y, por otro, la ausencia de astrocitos en las hendiduras sinápticas también posea un papel funcional. En este sentido se ha sugerido que en las sinapsis glomerulares se pueden acumular iones K^+ y algunos neurotransmisores en el medio extracelular, que no son retirados hasta que no alcanzan la membrana glial que rodea al glomérulo (Sherman y Guillery, 2006).

2.4. Las interneuronas: ultraestructura de sus eferencias y aferencias

Las interneuronas son, numéricamente hablando, la mayor fuente de aferentes inhibitorias de las neuronas de proyección en algunos núcleos talámicos. La aunque la proporción de estas células es muy variable según las especies, siendo más numerosas en los primates. Las interneuronas contribuyen al circuito sináptico del tálamo mediante dos tipos de perfiles: sus dendritas presinápticas (terminales F2) y sus axones (terminales F1). Los axones de las interneuronas son similares a los de las neuronas reticulares. Ambos tienen terminales con un tamaño medio, contienen vesículas aplanadas y realizan contactos sinápticos simétricos. Los terminales F1 se encuentran tanto en sinapsis glomerulares como extraglomerulares. Es importante insistir en que las dendritas de las interneuronas, que forman los terminales F2, se pueden observar en el interior de los glomérulos, son post y presinápticos y forman tríadas, mientras que los axones (terminales F1), nunca son postsinápticos a otros perfiles. Las dendritas de las interneuronas se ramifican a unas 200 μm del cuerpo neuronal y sus axones se

relacionan con neuronas de proyección de manera constante en todos los núcleos talámicos.

Bickford y cols. (1999) han descrito dos tipos de interneuronas en el tálamo visual según contengan o no sintetasa cerebral de óxido nítrico (BNOS) una enzima involucrada en la formación de óxido nítrico y que, en general, indica la presencia de esa sustancia neuroactiva dentro de las neuronas. Aquellas que contienen BNOS son algo más grandes que las otras, poseen un árbol dendrítico más simple y parecen formar parte de sinapsis extraglomerulares, mientras que las que no contienen BNOS se encuentran más frecuentemente en el glomérulo.

En cuanto a las aferencias de las interneuronas, sólo las que no contienen BNOS reciben *driver inputs* (terminales RL). Estas interneuronas, que contactan con las dendritas de las neuronas de proyección reciben, además de los *drivers*, aferencias de terminales F1 y RS. Los *drivers* se relacionan particularmente con los procesos dendríticos axoniformes de las interneuronas (terminales F2) y, en menor medida, con los tallos dendríticos de las mismas. Los terminales F1 representan aferentes principalmente de axones de interneuronas locales y de otras aferencias GABAérgicas, aunque son escasos los terminales reticulares que contactan con interneuronas (Cucchiari y cols., 1991; Wang y cols., 2001). En este momento no está claro cómo se distribuyen exactamente las aferencias en las diferentes partes de las interneuronas excepto los perfiles F1, la mayoría provenientes de otras interneuronas, que son presinápticos a perfiles F2 que contienen vesículas dentro del glomérulo, y también contactan con dendritas de dichas interneuronas fuera del glomérulo. Los perfiles RS representan axones corticotálámicos y axones colinérgicos desde el tronco del encéfalo, así como ramas axónicas locales de las neuronas de proyección.

2.5. Ultraestructura de los núcleos talámicos asociativos: el núcleo dorsomediano

En la actualidad disponemos de una información relativamente extensa acerca de la organización y distribución de las aferencias y eferencias del MD (Tobias, 1975; Kievit y Kuypers, 1977; Goldman-Rakic y Porrino, 1985; Giguere y Goldman-Rakic, 1988; Erickson y Lewis, 2004), pero se conoce bastante poco de su arquitectura sináptica.

Schwartz y cols., (1991) realizaron un análisis ultraestructural para caracterizar los diferentes tipos de sinapsis en la región parvocelular del MD (MDpc) de macaco. Estos autores estudiaron los tipos de sinapsis tanto en las regiones glomerulares como en el neuropilo extraglomerular. La descripción que sigue de la ultraestructura del núcleo MD de macacos está basada en dicho trabajo de Schwartz y cols. (1991).

El glomérulo de MD está formado por una estructura central postsináptica y dos o tres tipos distintos de elementos presinápticos, todo ello envuelto por una cápsula astrocitaria. A diferencia de la organización glomerular de otros núcleos talámicos en los que el elemento central es una aferente terminal grande (tipo RL), el elemento central en MD es típicamente un perfil dendrítico grande correspondiente a una neurona de proyección.

2.5.1. Tipos de terminales presinápticos dentro del glomérulo.

Schwartz y cols. (1991) describieron la existencia de al menos tres tipos.

A) Dendritas presinápticas (PSD)

Las PSD son los perfiles intraglomerulares más numerosos. Contienen vesículas y poseen un citoplasma pálido. En un solo glomérulo pueden encontrarse hasta ocho o diez. Sus vesículas suelen ser pleomórficas o aplanadas y, en ocasiones, de centro denso (*dense core vesicles*). Se describen dos tipos de contactos entre las PSDs y la dendrita central. Un tipo de contacto parece ser no-sináptico y se asemeja a la especialización tipo *puncta adherentia*. El segundo tipo de contacto entre la PSD y la dendrita central u otra PSD es una sinapsis convencional simétrica.

B) Terminales RL

Son terminales de calibre mediano o grande que contienen varias mitocondrias de tamaño mediano y vesículas redondeadas. En muchas ocasiones contienen invaginaciones de las dendritas postsinápticas que se continúan con la dendrita glomerular central. Estos terminales forman sinapsis asimétricas con dendritas convencionales y espinas dendríticas, aunque también se encuentran en sus membranas áreas de contactos simétricos sin vesículas adosadas a la membrana. Éstas últimas son contactos tipo *puncta adherentia*. Además de los contactos con la dendrita central, los

terminales LR realizan frecuentes contactos sinápticos asimétricos con uno o más perfiles que contienen vesículas. Schwartz y cols. (1991) han propuesto que el origen de estos axones está en la capa V de la corteza prefrontal.

C) Terminales RS

Son terminales pequeños con vesículas redondeadas que ocupan una posición periférica dentro del glomérulo. Contienen menor cantidad de vesículas que los terminales RL, carecen de mitocondrias y forman contactos sinápticos asimétricos con dendritas que contienen vesículas (PSD).

2.5.2. Tipos de terminales presinápticos en el neuropilo extraglomerular

Schwartz y cols. (1991) describieron cuatro clases de terminales presinápticas.

A) Terminales RS

Son el tipo de terminales más común y su calibre es pequeño o mediano. Contienen gran cantidad de vesículas esféricas empaquetadas y prácticamente carecen de mitocondrias. Establecen contactos sinápticos asimétricos con dendritas convencionales de todos los tamaños así como con PSDs. Éstos son los perfiles presinápticos que con mayor frecuencia se encuentran en el MDpc. Schwartz y cols. (1991) han sugerido que el origen de estos axones está en la capa VI de la corteza prefrontal.

B) Terminales FS

Son terminales pequeñas que contienen vesículas aplanadas o pleomórficas y forman sinapsis simétricas con dendritas de pequeño y mediano calibre, y con somas (FS, *Flattened vesicles*, *Small terminals*). Las vesículas no están tan densamente empaquetadas como en las RS y es habitual que las FS contengan de una a tres mitocondrias. Aunque la mayoría de los contactos sinápticos de FS se establecen con dendritas de neuronas de proyección, también realizan contactos con PSD, y son el elemento presináptico predominante en los pocos casos de sinapsis axosomáticas observadas.

C) Terminales SL

Realizan contacto sólo con el soma neuronal. Son más grandes que las anteriores y contienen gran cantidad de organelas. Tienen un citoplasma pálido con vesículas aplanadas o pleomórficas diseminadas en su interior (**SL**: *Sparsely distributed vesicles, Large size*). Forman sinapsis simétricas con el soma neuronal y a veces son postsinápticas a un terminal SR, por lo cual se piensa que puedan ser dendritas presinápticas.

2.6. Ultraestructura de los núcleos motores: núcleos ventrales

A continuación se detalla la ultraestructura de VAmc, VLo y VL. Hasta el momento no existen estudios que específicamente hayan descrito la ultraestructura de VApc, por lo que no podemos describir su ultraestructura.

2.6.1. Núcleo ventral anterior: subdivisión magnocelular

La subdivisión magnocelular del VA (VAmc) se reconoce claramente tanto en humanos como en primates por la presencia de neuronas grandes y densamente teñidas, que es atravesada en su región medial por el tracto mamilotálámico. Se ha considerado clásicamente a esta subdivisión como la receptora de aferentes nigrotálámicas del tálamo motor (Carpenter y cols., 1976), confiriendo un papel básicamente motor. Estudios posteriores revelaron que también recibe aferencias desde el colículo superior (Harting y cols., 1980).

La ultraestructura del núcleo VAmc ha sido estudiada en el tálamo de *Macaca mulatta* por el grupo de Ilinsky (Ilinsky y Kultas-Ilinsky, 1990) con una variedad de técnicas neuroanatómicas que incluyen morfometría cuantitativa, trazado retrógrado y anterógrado con aglutinina de germen de trigo y peroxidasa de rábano (WGA-HRP) desde la corteza prefrontal, e inmunohistoquímica para la decarboxilasa de ácido glutámico (GAD).

2.6.1.1. Células

Los principales tipos de células identificados en este núcleo son: neuronas de proyección tálamo-corticales que son multipolares y de varios tamaños, y células

pequeñas inmunorreactivas para GAD, que son aparentemente interneuronas. La relación aproximada de los dos tipos de células es 10:1.

2.6.1.2. Perfiles presinápticos en el neuropilo

A) Terminales F1

Los terminales axónicos más numerosos en el neuropilo son de tamaño mediano a grande (área de 1.5 a 12 μm^2), forman contactos simétricos, contienen cantidades moderadas de vesículas pleomórficas, pero mayoritariamente vesículas aplanadas y gran número de mitocondrias, y forman numerosas *puncta adherens*. Todos estos terminales presentan inmunorreactividad para GAD. Estos terminales constituyen la única población sináptica sobre somas y dendritas primarias de las neuronas de proyección y forman la inmensa mayoría sobre las dendritas secundarias de dichas neuronas. Hay una menor cantidad de estos terminales sobre dendritas terciarias de las neuronas de proyección y sobre las dendritas de las interneuronas. Adicionalmente, terminales axónicos con estructura similar forman sinapsis en los conos axónicos (*axon hillock*) de las neuronas de proyección y en somas o partes muy proximales de las dendritas primarias de las interneuronas. Estos terminales podrían corresponder a axones del núcleo reticular del tálamo pero no puede descartarse otro origen (Ilinsky y cols., 1999). Con la excepción de los terminales en las dos últimas localizaciones, todos los demás terminales de este grupo fueron terminales de aferencias nigrotalámicas (Kultas-Ilinsky and Ilinsky, 1990).

Los terminales F1 del núcleo reticular provienen de su polo anterior y forman sinapsis en el 48% de los casos con interneuronas. El resto de sinapsis las realizan con dendritas distales las neuronas de proyección. Una característica de estos terminales es que forman múltiples contactos *en passant* y que, con frecuencia, cada axón realiza más de un contacto sináptico. En ocasiones forman complejos de sinapsis parecidos a glomérulos (Ilinsky y cols., 1999).

B) Terminales RS

La segunda población en número de terminales de tamaño pequeño o mediano, que forman contactos asimétricos y contienen gran número de vesículas redondas y pocas o ninguna mitocondria. Estos terminales se marcan anterógradamente desde la corteza y

terminan predominantemente en dendritas distales de las neuronas de proyección y las interneuronas. Se considera que su origen está en la capa VI de la corteza cerebral.

C) Terminales RL

La tercera población de terminales axonales encontrada en el VAmc está representada por terminales de tamaño mediano a grande, con vesículas redondeadas y contactos asimétricos. Estos terminales no se marcan tras las inyecciones corticales y presumiblemente corresponden a aferencias desde el colículo superior hacia el tálamo. Estos terminales forman sinapsis en dendritas secundarias y terciarias de las neuronas de proyección y en dendritas distales de las interneuronas, pero se observaron infrecuentemente.

2.6.1.3. Organizaciones sinápticas

En el neuropilo de VAmc no se observan organizaciones sinápticas complejas tales como glomérulos y las tríadas están prácticamente ausentes. Sin embargo, sí se observan otras organizaciones como algunas sinapsis en serie, en la que un terminal RS realiza sinapsis con F2 de interneuronas y éstas, a su vez, con somas o dendritas de las neuronas de proyección.

La organización ultraestructural del VAmc es muy diferente de la de otros núcleos específicos del tálamo que procesan modalidades sensoriales, como la del núcleo geniculado lateral, extensamente estudiada por Sherman y Guillery (2006), que ha servido de patrón de la ultraestructura del tálamo de mamíferos.

2.6.2. Núcleo ventral anterior: subdivisión densocelular

La subdivisión densocelular del núcleo ventral anterior (VAdc) corresponde a la subdivisión oral del núcleo ventral lateral (VLo) según la clasificación de Olszewski (1952). VAdc fue inicialmente delimitada por los Ilinsky utilizando técnicas anatómicas cuantitativas y cualitativas (Ilinsky y Kultas-Ilinsky, 1987). En 1997 los mismos autores realizaron un estudio ultraestructural de este núcleo (Kultas-Ilinsky y cols., 1997). Para ello utilizaron técnicas de trazado desde la corteza premotora dorsolateral consistentes en la inyección de WGA-HRP, a fin de marcar retrógrada y anterógradamente las neuronas del tálamo. Las neuronas talámicas de proyección tenían un tamaño pequeño

o medio, con numerosas dendritas primarias que posteriormente presentaban ramificaciones. Las interneuronas inmunorreactivas para ácido gamma-aminobutírico (GABA) y GAD eran pequeñas y presentaban escasas dendritas.

2.6.2.1. Perfiles presinápticos en el neuropilo

A) Terminales GABAérgicos de gran tamaño (F1 grandes)

Son los terminales más abundantes en el neuropilo. Se trata de terminales grandes de tipo F1 con abundantes mitocondrias y cantidades moderadas de vesículas pleomórficas. Forman sinapsis de tipo simétrico. La forma de estos terminales sinápticos es aplanada y elongada, y muchos de ellos forman parte de axones con varicosidades y contactos *en passant*. En general cubren densamente sitios de aposición con regiones proximales de las neuronas de proyección.

B) Terminales GABAérgicos de pequeño tamaño (F1 pequeños)

Son terminales pequeños de tipo F1 con vesículas pleomórficas y contactos sinápticos simétricos. Presentan menos mitocondrias y de menor tamaño, además de vesículas más pequeñas que los F1 grandes. Los F1 pequeños contactan mayoritariamente con dendritas distales de las neuronas de proyección y pueden corresponder a axones del núcleo reticular del tálamo. Los F1 pequeños forman sinapsis en el 65% de los casos con interneuronas, el resto las realizan con dendritas distales de neuronas de proyección. Como se ha comentado previamente, una característica de estos terminales es que forman múltiples contactos *en passant* y que, con frecuencia, cada axón realiza más de un contacto sináptico. En ocasiones forman complejos de sinapsis parecidas a glomérulos (Ilinsky y cols., 1999).

C) Terminales RS

Son terminales pequeños que contienen vesículas redondas y presentan contactos asimétricos, con escasas mitocondrias. En VAdc este tipo de terminales era muy numeroso. Se identificaron, según el tamaño del terminal sináptico, dos subpoblaciones, unos más grandes y otros más pequeños. La variabilidad en el tamaño, la presencia en algunos de ellos de vesículas de centro denso y la aparición de vesículas vacuolares en otros sugiere una gran heterogeneidad de esta población de terminales. La inyección de

WGA-HRP en las cortezas motora y premotora produjo inmunomarcaje en muchos terminales RS.

D) Terminales LR

Son terminales de gran tamaño (área media $1,6 \mu\text{m}^2$), infrecuentes en VAdc. Están rellenos de numerosas vesículas redondeadas y mitocondrias y forman sinapsis asimétricas. Los terminales LR presentan inmunorreactividad tras la inyección de WGA-HRP en la corteza motora primaria pero no tras la inyección en la corteza premotora.

Tanto los terminales RS como los LR contactan fundamentalmente con dendritas distales de las neuronas de proyección, aunque algunos hacen sinapsis en dendritas más proximales junto a terminales F1 de gran tamaño.

E) Perfiles F2

Se trata de perfiles pálidos que contienen agrupaciones de vesículas plemofórmicas, ocasionalmente microtúbulos y ribosomas, y algunas mitocondrias, que forman sinapsis simétricas. Estos perfiles son también postsinápticos a otros tipos de terminales o perfiles similares. En todos los casos las vesículas son GABAérgicas. Aunque este tipo de perfiles se observan de manera consistente en el neuropilo, los contactos sinápticos son infrecuentes.

2.6.2.2. Densidad de perfiles y organizaciones sinápticas

La densidad de los terminales con sinapsis simétricas y asimétricas (el número de terminales por 100 μm de longitud de membrana de la neurona de proyección) es 3,3:0,2 en dendritas primarias, 2,5:1,2 en secundarias, y 0,8:12 en dendritas distales. La densidad numérica de sinapsis formadas por dendritas presinápticas de las interneuronas, a todos los niveles de las neuronas de proyección, es 20 a 40 veces menor que aquellas de los terminales axónicos en los mismos lugares. Las aferencias a las interneuronas, sea su origen cortical o no, realizan sinapsis principalmente con dendritas distales. Por todo ello, se sugiere que las neuronas de proyección de VAdc reciben aferencias inhibitorias masivas en sus dendritas proximales, intercaladas con algunas aferencias presumiblemente excitatorias, y que la contribución de las interneuronas a la

inhibición de las neuronas de proyección es modesta. Además, los mismos autores han demostrado que la mayor parte de la inhibición GABAérgica sobre las dendritas proximales y el soma de las neuronas de proyección proviene del globo pálido. Sólo el 15% de los axones inmunorreactivos que provienen del pálido establecen sinapsis en las dendritas distales GABAérgicas de las interneuronas.

Los axones palidales se distribuyen también formando parte de tríadas, aunque el número de estas últimas es escaso. Es interesante que dichas tríadas estén formadas por terminales tipo F1 que hacen sinapsis con dendritas de neuronas de proyección y dendritas de interneuronas; y estas últimas, a su vez, forman sinapsis con los somas de las neuronas de proyección o sus dendritas. Por tanto, estas disposiciones consisten en tres contactos sinápticos GABAérgicos. Esto las diferencia de las tríadas talámicas clásicas, donde dos contactos sinápticos formados por un terminal aferente sobre dos tipos de dendritas son de tipo asimétrico. Por tanto se ha sugerido un efecto dual en las aferentes palidales sobre las neuronas de proyección: una inhibición directa y una desinhibición mediada por interneuronas (Ilinsky y Kultas-Ilinsky, 1997). Además, se observan con frecuencia sinapsis en serie, en las que un F1 palidal establece una sinapsis con un perfil F2, que a su vez establece sinapsis con una dendrita o soma de una neurona de proyección u otro F2. La ultraestructura de los terminales palidotálamicas en el mono es similar a la descrita previamente en el gato. Sin embargo, hay diferencias interespecie en la distribución de las aferencias palidales en las dianas postsinápticas y su participación en organizaciones sinápticas complejas, ya que la presencia de tríadas sólo ha sido observada en primates (Ilinsky y Kultas-Ilinsky, 1997; Kultas-Ilinsky y cols., 1983). Las tríadas no son muy numerosas, pero su existencia sugiere un control de la actividad talamocortical vía circuitos desinhibidores activados por las aferencias palidales.

En general, la organización de las aferencias pálido-tálamicas del VAdc del mono es similar a la nigrotalámica del VAmc (Kultas-Ilinsky e Ilinsky, 1990; Ilinsky y cols., 1993). Ambas vías establecen contactos con el soma y las dendritas proximales de las neuronas de proyección tálamo-cortical, y en una proporción similar de terminales (13% de las nigrales y 15% de las palidales) (Ilinsky y Kultas-Ilinsky, 1997) hacen sinapsis con las interneuronas. La distribución de las estructuras postsinápticas es también similar a la encontrada en el gato (Kultas-Ilinsky y cols., 1983), aunque en el mono se

observa una mayor proporción de sinapsis palidales en las regiones proximales de las neuronas de proyección. La aferencia palidal a las neuronas de proyección en el VAdc del mono es masiva y ocupa una posición estratégica, ya que los somas y las dendritas proximales reciben contactos casi exclusivamente de aferencias palido-talámicas. Esto sugiere que el disparo de las neuronas tálamo-corticales de VAdc se encuentra bajo un gran control de la vía pálido-talámica. El impacto de dicha vía también en regiones más distales de las neuronas de proyección puede estar influyendo la actividad córtico-talámica y compite con las aferencias inhibitoras de otras fuentes como son el núcleo reticular del tálamo y las interneuronas.

La presencia de organizaciones sinápticas complejas en los terminales pálido-talámicos es un hallazgo en el VAdc que no se observa en las aferencias nigro-talámicas del VAmc (Kultas-Ilinsky e Ilinsky, 1990), ni en las aferencias pálido-talámicas o nigro-talámicas del gato (Kultas-Ilinsky y cols., 1983). El significado de las tríadas o las sinapsis en serie no está claro, aunque sugiere que puedan existir circuitos de desinhibición activados por las propias aferencias palidales.

2.6.3. Núcleo ventral lateral

La ultraestructura de este núcleo, que constituye el mayor territorio de aferencia cerebelosa del tálamo, ha sido estudiada por Kultas-Ilinsky e Ilinsky (1991) mediante trazado neuronal, inmunohistoquímica y técnicas morfométricas cuantitativas. El núcleo VL contiene somas neuronales de dos tipos: multipolares que se marcan de manera retrógrada tras la inyección en la circunvolución precentral y muestran una ramificación dendrítica muy rica (neuronas de proyección); y somas pequeños que corresponden a interneuronas GABAérgicas y no se marcan con el trazado desde la corteza. La proporción entre los dos tipos es 3:1. Las interneuronas establecen contactos sinápticos en los somas de las neuronas de proyección y en todos los niveles de su arborización dendrítica, conformando sinapsis sencillas o complejos sinápticos.

2.6.3.1. Perfiles presinápticos

A) Terminales RL

Son los terminales más abundantes en el neuropilo y, como se ha comentado previamente, son de gran tamaño y con vesículas redondas. Establecen sinapsis

asimétricas con el soma y las dendritas proximales de las neuronas de proyección, así como con las dendritas distales de las interneuronas. Todos los terminales RL excepto los más grandes, se marcan anterógradamente tras la inyección de WGA-HRP en los núcleos cerebelosos profundos. Además, forman parte de glomérulos y tríadas, aunque estos últimos complejos sinápticos son muy infrecuentes.

B) Terminales RS

Son los terminales axónicos más abundantes en el neuropilo y se marcan de manera anterógrada tras la inyección de WGA-HRP en la circunvolución precentral. Forman contactos sinápticos asimétricos predominantemente con dendritas distales de las neuronas de proyección y de las interneuronas. Sin embargo, sus áreas de aposición se solapan con los terminales RL en segmentos intermedios de las dendritas de neuronas de proyección. Los terminales RS forman sinapsis en serie con las dendritas de las interneuronas y éstas, a su vez, forman contactos con los somas y todo tipo de dendritas de las neuronas de proyección. Además, los RS participan en complejos sinápticos consistentes en sinapsis en serie con dendritas de las interneuronas y, ocasionalmente, complejos con terminales con contactos simétricos. Estas estructuras se denominan “glomérulos pequeños” y son mucho más frecuentes en el VL del mono que los glomérulos clásicos, que se organizan alrededor de terminales RL.

C) Terminales F1

Es una población muy heterogénea que contiene perfiles de diferentes tamaños y son todos inmunorreactivos para GAD. Los terminales contienen vesículas pleomórficas o casi cilíndricas y realizan contactos simétricos. La mayoría de los terminales F1 son grandes y forman sinapsis axosomáticas y axodendríticas en los dos tipos de neuronas, y sinapsis axoaxónicas en los segmentos iniciales de la neurona de proyección. Los terminales F1 participan en complejos sinápticos con las dendritas presinápticas de las interneuronas y los terminales RS, además de formar parte de tríadas con tres contactos simétricos.

Los terminales F1 más pequeños podrían corresponder a axones del polo anterior del núcleo reticular (Ilinsky y cols., 1999). En VL, los terminales reticulares F1 forman sinapsis en el 62% de los casos con interneuronas. El resto de sinapsis las realizan con

dendritas distales las neuronas de proyección. Como se ha comentado previamente, una característica de estos terminales es que forman múltiples contactos *en passant* y que, con frecuencia, cada axón realiza más de un contacto sináptico. En ocasiones forman complejos de sinapsis parecidas a glomérulos (Ilinsky y cols., 1999).

La presencia de un mayor número de sinapsis asimétricas en niveles proximales de las neuronas de proyección, así como de un mayor número de simétricas en las dendritas distales, sugiere que hay una dominancia de las aferencias excitatorias (RL y RS) en las dendritas proximales y somas de dichas neuronas con una influencia inhibitoria sobre todo a nivel de dendritas distales (Kultas-Ilinsky e Ilinsky, 1991).

En conclusión, la organización sináptica de los núcleos asociativos y motores descritos es diferente (Tabla 1). En primer lugar, el núcleo MD recibe su principal aferencia (*driver input*) de la corteza cerebral (capa V) y tiene la forma de un axón RL, por lo que se asume que es glutamatérgico (excitatorio). El terminal RL contacta con las dendritas proximales de las neuronas de proyección, sobre todo dentro de una estructura que se denomina glomérulo y tiene una envoltura glial. Asimismo, recibe aferencias moduladoras desde la corteza cerebral (capa VI) que forman terminales RS y contactan con dendritas distales de las neuronas de proyección, así como con las dendritas presinápticas de las interneuronas (terminales F2). Con estas últimas establece contactos tanto dentro como fuera del glomérulo. Además, frecuentemente se forman tríadas, entre un terminal RL, un F2 y una dendrita de la neurona de proyección.

Los núcleos VAmc y VLo (VAdc según los Ilinsky, 1987) tienen algo en común: su aferencia más importante es un axón GABAérgico, por lo tanto inhibitorio, y forma un terminal de gran tamaño, del tipo F1. Estos terminales F1 realizan sinapsis en las dendritas proximales de las neuronas de proyección, mientras que los terminales glutamatérgicos desde la corteza, que suelen ser de tipo RS o RL, realizan contactos en las mismas neuronas pero más distalmente. Estos núcleos no presentan glomérulos ni tríadas convencionales. Sin embargo, es frecuente encontrar, sobre todo en VLo, sinapsis en serie, en las que un terminal F1 palidal establece una sinapsis con un perfil F2, que a su vez establece sinapsis con una dendrita o soma de una neurona de proyección u otro F2. La mayor diferencia entre VAmc y VLo está en el origen de dichos terminales F1: los de VAmc se originan fundamentalmente en la SNr y los de VLo en el GPM. En estos núcleos, los terminales RS y RL tienen un origen diverso, algunos son corticales,

Tabla 1. Ultraestructura de las aferencias del núcleo dorsomediano y los núcleos ventrales

	MDI=MEPC (1,2,3,4)	NÚCLEOS VENTRALES		
		VAmc (5,6,11)	VAdc (= VLo) (7,8,9,11)	VL (10,11)
TERMINALES RL	Muy abundantes	Infrecuentes	Infrecuentes	Los más abundantes
Origen	Capa V de la CPf	¿colículo superior? ¿otro?	CMP, ¿AMS? ¿otro?	-Grandes: cerebelo -Muy grandes: desconocido
Neurotransmisor	-Glomérulo: Glu, Ach, ¿otro? -Neuropilo: Ach, ¿otro?	Glu, ¿otro?	Glu, ¿otro?	Glu, ¿otro?
Diana	-Glomérulo: D1 y D2 de NP -Neuropilo: otras dendritas	D2 y D3 de las NP y Dd de las interneuronas	-Origen en CMP: D2 y D3 de NP, Dd de IN -Otros orígenes: D1 y D2 de NP	Soma y D1 de NP, Dd de IN
Tipos sinapsis	Asimétricas, simétricas (las Ach glomerulares)	Asimétricas	Asimétricas	Asimétricas
Otros contactos	<i>Puncta adherentia</i>			<i>Puncta adherentia, en passant</i>
TERMINALES RS	-Glomérulo: frecuentes -Neuropilo: muy frecuentes	Muy abundantes	Los mas abundantes	Muy abundantes
Origen	CPF (capa VI)	Corteza prefrontal (capa VI)	CMP, CP, ¿AMS? ¿otros?	circunvolución precentral (capa V), ¿otro?
Neurotransmisor		Glu	Glu, ¿otro?	Glu, ¿otro?
Diana	-Glomérulo: F2 -Neuropilo: dendritas de NP, F2	Soma, D2 y D3 de NP ; Dd de IN	-Origen en CMP y CP: D3 de NP, Dd de IN -Otros orígenes: D1 y D2 de NP	D2 y D3 de NP; Dd de IN
Sinapsis	Glomérulo: asimétricas Neuropilo: asimétricas	Asimétricas, en serie	Asimétricas	Asimétricas
TERMINALES F1	Frecuentes	Los más abundantes.	F1 grandes: muy abundantes F1 pequeños: abundantes	Abundantes
Tipos		F1 grandes F1 pequeños	F1 grandes F1 pequeños	F1a: con vesículas pequeñas F1b: vesículas más grandes F1c muy pequeñas
Origen	Polo anterior del NRT	SNr, polo anterior del NRT	Grandes: Gpm Pequeños: polo anterior de NRT	Polo anterior del NRT, ¿otros?
Neurotransmisor	GABA	GABA	GABA	GABA
Diana	Soma, D2 y D3 de NP, F2	-De SNr: D2, D1 y somas de NP. -De NRT: cono axónico, somas y D1 de NP, Dd de IN	-Grandes: somas, D1, D2 y axones de NP, Dd de IN. -Pequeños: D3 de NP, somas y Dd de IN.	Somas y dendritas de NP e IN, cono axónico de NP.
Sinapsis	Simétricas	Simétricas	Simétricas	Simétricas
Otros contactos	<i>En passant</i>	-De SNr: <i>en passant, puncta adherentia</i> -De NRT: <i>en passant</i>	-Grandes: <i>en passant, puncta adherentia</i> -Pequeños: <i>en passant</i>	<i>En passant, puncta adherentia</i>
TERMINALES F2	Muy frecuentes	Infrecuentes	Frecuentes	Frecuentes
Origen	Interneuronas	Interneuronas	Interneuronas	Interneuronas
Neurotransmisor	GABA	GABA	GABA	GABA
Diana	D1 de NP	Desconocido	Dendritas de las NP	Dendritas de NP e IN, somas de NP
Sinapsis	Simétricas	Simétricas	Simétricas	Simétricas
Otros contactos	<i>puncta adherentia</i>			
GLOMÉRULOS	Muy frecuentes	No	No	Muy frecuentes
Elemento central	D1 de NP			D1 de NP
TRÍADAS	Muy abundantes	No	No	Muy raras
SINAPSIS EN SERIE	Infrecuentes	Frecuentes	Muy frecuentes	Muy frecuentes

Ach indica acetilcolina; AMS, área motora suplementaria; CP, corteza promotora; CPf, corteza prefrontal; CPM, corteza motora primaria; D1, dendritas primarias; D2, dendritas secundarias; D3, dendritas terciarias; Dd, dendritas distales; F1, terminales *Flattened vesicles*, F2, dendritas presinápticas de interneuronas; GABA, ácido gamma aminobutírico; Glu, glutamato; ; Gpm, globo pálido medial; IN, interneuronas; NP, neuronas de proyección; NRT, núcleo reticular del tálamo; RL, terminales *Round vesicles Large size*; RS terminales *Round vesicles Small size*; SNr, *pars reticulata* de la sustancia negra.

1: Schwartz y cols., 1991; 2: Schwartz y cols., 1993; 3: Kultas-Ilinsky y cols., 1995; 4: Tai y cols., 1995; 5: Ilinsky y cols., 1990; 6: Kultas-Ilinsky e Ilinsky, 1990; 7: Kultas-Ilinsky y cols., 1997a; 8: Ilinsky y Kultas-Ilinsky, 1997b; 9: Yi y cols., 1993; 10: Kultas-Ilinsky e Ilinsky, 1991; 11: Ilinsky y cols., 1999.

pero otros pueden provenir de estructuras subcorticales. Por otra parte, el núcleo VL difiere de los demás núcleos ventrales motores en las características de su *driver input*, ya que se trata de un terminal glutamatérgico del tipo RL y de origen cerebeloso. Este terminal establece contacto con las dendritas proximales de las neuronas de proyección. Además, el núcleo VL presenta glomérulos, en los que el elemento central es la dendrita de una neurona de proyección.

3. LA DOPAMINA EN EL TÁLAMO

El tálamo de ratas alberga innervación dopaminérgica restringida a los núcleos paraventricular y paratenial, cuyo origen se identificó en los grupos dopaminérgicos A8 y A10 (Takada y cols., 1990). La innervación dopaminérgica del tálamo del humano y el mono es mucho más extensa que en las ratas. No obstante, la existencia de una innervación dopaminérgica más amplia en el tálamo de primates era negada por algunos autores hasta no hace mucho, afirmando que esta innervación es “virtualmente nula” o, en todo caso, “extremadamente reducida” (Jones, 1998).

La presencia de fibras dopaminérgicas en el tálamo de primates ha sido descrita en nuestro laboratorio mediante inmunohistoquímica para hidroxilasa de tiroxina (TH) y para dopamina en *Macaca nemestrina* (Rico, 1998; Sánchez-González y cols., 2005), así como mediante inmunohistoquímica para el transportador de la dopamina (DAT) en *Macaca nemestrina* y en *Macaca mulatta*, y en cerebro humano (Sánchez-González y cols.; 2005 García-Cabezas, 2007; García-Cabezas, 2009). Los axones dopaminérgicos innervan la práctica totalidad de los núcleos del tálamo de primates, aunque su distribución es heterogénea. En el macaco, la mayor densidad se encuentra en la línea media del tálamo. Fuera de la línea media, los núcleos que presentan la mayor densidad dopaminérgica son los núcleos de asociación MD, el lateral posterior (LP) y la parte medial del pulvinar (Pul M), además de la parte caudal del núcleo motor ventral lateral (VLc). De manera paralela, Melchitzky y Lewis (2001), en otro estudio con inmunohistoquímica para DAT, han descrito la presencia de gran cantidad de fibras dopaminérgicas en el núcleo MD de *Macaca fascicularis*.

En el humano también existe una amplia innervación dopaminérgica en el tálamo, que es más densa en las regiones de los núcleos de la línea media, los núcleos de asociación MD y LP, y en los núcleos motores ventrales anteriores (VA) (García-Cabezas, 2007).

Además, los estudios *in vivo* en humanos han mostrado una amplia distribución de receptores D2 en el tálamo mediante técnicas de *binding* con agonistas dopaminérgicos marcados radiactivamente (Rieck y cols., 2003). La distribución del marcaje con el agonista D2 es similar a la que hemos obtenido en nuestro laboratorio en el mono para los marcadores dopaminérgicos mencionados. También se ha observado la disminución de sitios de unión D2/D3 mediante *binding* en el tálamo de pacientes esquizofrénicos (Talvik y cols., 2003).

3.1. Inervación dopaminérgica del núcleo dorsomediano

3.1.1. Origen de la inervación dopaminérgica del núcleo dorsomediano

El origen de la inervación dopaminérgica del tálamo de macaco ha sido estudiada en nuestro laboratorio (Sánchez-González y cols., 2005) mediante inyección de trazadores neuronales de forma selectiva en el núcleo MD, núcleo VA, núcleos de la línea media, núcleo LP y núcleo VL. Para identificar las neuronas dopaminérgicas que proyectan al tálamo se utilizaron dobles marcajes trazador/TH, y trazador/DAT. Este trabajo muestra que la inervación dopaminérgica del tálamo de macacos se origina en una gran diversidad de poblaciones neuronales. En concreto, la inervación dopaminérgica de MD proviene principalmente de la sustancia gris periacueductal (A11) (44% del total de somas doblemente marcados); del área tegmental ventral (A10) (12%); del área retrorrubral (A8) (12%); del grupo hipotalámico dorsal (A13) (9%); y en cantidad casi indetectable de A15 (núcleos supraóptico y paraventricular del hipotálamo), núcleo parabraquial lateral y de la banda dorsal de la sustancia negra *pars compacta* (A9d).

3.1.2. Distribución de la inervación dopaminérgica del núcleo dorsomediano

Un estudio reciente ha analizado la distribución de la inervación dopaminérgica en el tálamo del primates, realizando inmunohistoquímica anti-DAT, y ha mostrado que esta inervación es muy rica y, en algunas zonas, tan densa o más que en la corteza cerebral (García-Cabezas y cols., 2007). En MD, la inervación incluye a los sectores medial, ventral, lateral y posterior (MDm, MDv, MDl, y MDp, respectivamente) aunque la densidad del marcaje es muy heterogénea, con zonas de máxima densidad en la región más anterior del núcleo, donde los sectores MDm, MDl y MDv están claramente definidos. En esta región, las zonas de máximo inmunorreactividad están presentes en

MDm y en los territorios adyacentes de MDv y MDl. Los límites rostral y caudal de MD (MDp) muestran una densidad media moderada de axones inmunorreactivos para DAT.

Como en el macaco, la densidad del marcaje en MD del humano es llamativamente heterogénea. La zona ventromedial muestra un inmunomarcaje muy denso; desde esta zona la densidad disminuye progresivamente a lo largo del eje medioventral hacia laterodorsal. La densidad es moderada o leve en el límite posterior de MD (García-Cabezas y cols., 2007).

3.2. Inervación dopaminérgica de los núcleos ventrales

3.2.1. Origen de la inervación dopaminérgica de los núcleos ventrales

Como se ha comentado previamente para el núcleo MD, el origen de la inervación dopaminérgica del tálamo motor ha sido estudiada en nuestro laboratorio (Sánchez-González y cols., 2005) mediante inyección de trazadores neuronales de forma selectiva para el núcleo VA. La inervación dopaminérgica de este núcleo proviene principalmente del núcleo parabraquial lateral (LPbN) (47% del total de somas dopaminérgicos que proyectan a VA); del área tegmental ventral (A10) (33%); del grupo hipotalámico dorsal (A13) (13%); y de la sustancia gris periacueductal (A11) (7%).

3.2.2. Distribución de la inervación dopaminérgica del los núcleos ventrales

En los núcleos ventrales del mono, la parte oral del núcleo ventral lateral (VLo) y el ventral posterolateral (VPLo), el área X y la parte postrema del núcleo ventral lateral (VLps) muestran una densidad moderada de inmunoreactividad para DAT. El núcleo VApc muestra una densidad más baja y el VAmc es el de menor inervación dopaminérgica. Sin embargo, en el humano es diferente, ya que el núcleo motor VA y en concreto VAmc muestran una densa inervación dopaminérgica (García-Cabezas, 2006; García-Cabezas, 2007).

PLANTEAMIENTO, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

La innervación dopaminérgica del tálamo de primates ha sido propuesta recientemente (Meltchitzky y Lewis 2001, Sánchez-González y cols., 2005, García-Cabezas y cols., 2007, 2009). La causa más plausible para este tardío descubrimiento es la casi total ausencia de esta innervación en el tálamo de roedores (Groenewegen, 1988; Papadopoulos y Parnavelas, 1990), especies donde se realiza el mayor número de investigaciones en neurociencia. Los estudios de nuestro grupo de trabajo han llevado a definir un nuevo sistema dopaminérgico, el talámico, que está presente tanto en el mono macaco como en el hombre. Mediante técnicas de trazado retrógrado se identificó el origen del sistema, que es múltiple, a diferencia de los sistemas meso-estriatal, meso-límbico y meso-cortical; concretamente, los somas de las neuronas dopaminérgicas que innervan el tálamo de primates están en el hipotálamo, sustancia gris periacueductal, mesencéfalo y núcleo parabraquial lateral (Sánchez-Gonzalez y cols., 2005). En el tálamo, la distribución de los axones dopaminérgicos es heterogénea: algunos núcleos están densamente innervados, como el MD, los de la línea media y varios núcleos motores ventrales; otros núcleos están débilmente innervados, como los de relevo sensitivo, incluyendo los geniculados y el ventral posterolateral.

La dopamina desempeña un papel destacado en el control del movimiento (Agid, 1991), la memoria operativa (Brozoski y cols., 1979b), el aprendizaje sensorimotor (Aosaki y cols., 1994), el aprendizaje relacionado con la recompensa y la motivación (Schultz, 2002), y el sueño (Dzirasa y cols., 2009). La corteza frontal es una estructura fundamental en las dos primeras funciones, el control del movimiento y la memoria operativa. De hecho, la mayoría de los trabajos sobre innervación dopaminérgica cortical se han centrado en la corteza frontal, tanto en sus áreas motoras como en la corteza asociativa frontal o corteza prefrontal, pues esta última es importante para la memoria de trabajo (Gaspar y cols., 1992; Oeth y Lewis, 1992).

Las características ultraestructurales de los axones dopaminérgicos en primates son muy poco conocidas. Estudios recientes han mostrado que pueden ponerse de manifiesto mediante inmunohistoquímica, utilizando un anticuerpo contra DAT, un marcador muy sensible y específico de fenotipo dopaminérgico (Ciliax y cols., 1995; Ciliax y cols., 1999; Lewis y cols., 2001). Existen sólo dos trabajos que describen las características anatómicas de los axones inmunorreactivos para DAT en primates: uno centrado en la corteza cerebral (Melchitzky y Lewis, 2001) y el segundo en el núcleo dorsomediano

(MD) del macaco (Melchitzky y cols., 2006). En este último trabajo no se exploran aspectos fundamentales como la identificación de los elementos con los que hacen contactos sinápticos.

Es resumen, a pesar de la relevancia funcional de la dopamina cerebral y de los núcleos talámicos más densamente inervados por ella, como el MD y los ventrales motores, la organización sináptica de la inervación dopaminérgica del tálamo es prácticamente desconocida pues nunca ha sido explorada en los núcleos ventrales motores y apenas lo ha sido en el MD. A la vista de la revisión sobre la ultraestructura de estos núcleos talámicos presentada en la Introducción y resumida en la Tabla 1, que demuestra una gran heterogeneidad en la organización sináptica de los núcleos MD, VA y VLo, nuestra hipótesis es que los axones dopaminérgicos mostrarán una heterogeneidad morfológica comparable en dichos núcleos. De ser cierta la hipótesis morfológica se podría avanzar una hipótesis funcional: la dopamina actúa de formas diversas sobre los núcleos MD, VA y VLo, y por tanto sobre las estructuras y funciones asociadas a ellos, esto es, la corteza prefrontal y la corteza motora, funciones cognitivas y motoras, respectivamente.

Considerando estos antecedentes nos hemos planteado como objetivos de este trabajo:

1. Estudiar las características morfológicas ultraestructurales de la inervación dopaminérgica del tálamo conectado con la corteza asociativa frontal, en concreto del MDI, un núcleo asociativo.
2. Estudiar las características morfológicas ultraestructurales de la inervación dopaminérgica del tálamo conectado con la corteza motora frontal, en concreto de los núcleos VA, VLo y el propio MDI. Estos núcleos conectan con la corteza motora primaria, premotora, área motora suplementaria, corteza oculomotora y corteza cingular.

El trabajo de esta Tesis Doctoral está recogido en dos artículos de investigación que constituyen sendos capítulos de la misma. El primero, publicado en *Cerebral Cortex* en 2009, compara la inervación dopaminérgica del tálamo en mono y rata, e incluye una detallada descripción ultraestructural de los axones inmunorreactivos para DAT en el

núcleo MDI del mono. Este trabajo muestra la gran escasez de inervación dopaminérgica en el tálamo de la rata en comparación con el macaco y es el primero en mostrar, en el análisis ultraestructural, que las interneuronas son la diana fundamental de los axones dopaminérgicos en el tálamo de primates. El segundo artículo, que está pendiente de enviar a publicación, contiene un análisis detallado de la ultraestructura de los axones dopaminérgicos en los núcleos motores VAmc, VApc y VLo del macaco.

Referencias de la Introducción, Planteamiento, Hipótesis y Objetivos

- Agid Y. 1991. Parkinson's disease: pathophysiology. *Lancet* 337, 1321-1324.
- Anderson ME, Turner RS. 1991. Activity of neurons in cerebellar-receiving and pallidal-receiving areas of the thalamus of the behaving monkey. *J Neurophysiol* 66:879-8893.
- Aosaki T, Graybiel AM, Kimura M. 1994. Effect of the nigrostriatal dopamine system on acquired neural responses in the striatum of behaving monkeys. *Science* 265, 412-415.
- Apkarian AV, Hodge CJ. 1989. Primate spinothalamic pathways: III. Thalamic terminations of the dorsolateral and ventral spinothalamic pathways. *J Comp Neurol*; 288:493-511.
- Arcelli P, Frassoni C, Regondi MC, De Biasi S, Spreafico R. 1997. GABAergic neurons in mammalian thalamus: a marker of thalamic complexity? *Brain Research Bulletin* 42, 27-37.
- Asanuma, C, Thach WT, Jones EG. 1983. Distribution of cerebellar terminations and their relation to other afferent terminations in the ventral lateral thalamic region of the monkey. *Brain Res* 286, 237-265.
- Barbas H, Henion TH, Dermon CR. 1991. Diverse thalamic projections to the prefrontal cortex in the rhesus monkey. *J Comp Neurol*; 313: 65-94.
- Bickford ME, Carden WB, Patel NC. 1999. Two types of interneurons in the cat visual thalamus are distinguished by morphology, synaptic connections, content, and nitric oxide synthase. *J Comp Neurol* 413, 83-100.
- Brozoski TJ, Brown RM, Rosvold HE and Goldman PS. 1979. Cognitive deficit caused by regional depletion of dopamine in prefrontal cortex of rhesus monkey. *Science* 205;929-932.
- Carpenter MB, Nakano K, Kim R. 1976. Nigrothalamic projections in the monkey demonstrated by autoradiographic technics. *J Comp neurol* 165:401-416.
- Cavada C, Compañy T, Hernández-González A, Reinosos-Suárez F. 1995. Acetylcholinesterase histochemistry in the macaque thalamus reveals territories selectively connected to frontal, parietal and temporal association cortices. *J Chem Neuroanat*; 8: 245-257.
- Cavada C, Company T, Tejedor J, Cruz-Rizzolo RJ, Reinoso-Suárez F. 2000. The anatomical connections of the macaque monkey orbitofrontal cortex. A review. *Cereb Cortex* 10, 220-242.

- Clark AS, Schwartz ML, Goldman-Rakic PS. 1989. GABA-immunoreactive neurons in the mediodorsal nucleus of the monkey thalamus. *J Chem Neuroanat* 2:259-267.
- Ciliax BJ, Drash GW, Staley JK, Haber S, Mobley CJ, Miller GW, Mufson EJ, Mash DC, Levey AI. 1991. Immunocytochemical localization of the dopamine transporter in human brain. *J Comp Neurol* 409:38-56.
- Ciliax BJ, Heilman C, Demchyshyn LL, Pristupa ZB, Ince E, Hersch SM, Niznik HB, Levey AI. 1995. The dopamine transporter: Immunochemical characterization and localization in brain. *J Neurosci* 15: 1714-1723.
- Clark AS, Schwarz ML, Goldman-Rakic PS. 1989. GABA-immunoreactive neurons in the mediodorsal nucleus of the monkey thalamus. *J Chem Neuroanat.* 2:259-267.
- Colonnier, M., 1968. Synaptic patterns on different cell types in the different laminae of the visual cortex. *Brain Research* 9, 268-287.
- Compañy T. Arquitectura química y conectiva del tálamo. Estudio histoenzimático y de las conexiones con la corteza orbitofrontal en *Macaca nemestrina*. Madrid: Universidad Autónoma de Madrid. 1994.
- Cowan, WM, Sudhof TC, Stevens CF. 2002. *Synapses*. Johns Hopkins University Press, Baltimore.
- Cox CL, Zhou Q, Sherman SM. 1998. Glutamate locally activates dendritic outputs of thalamic interneurons. *Nature* 394, 478-482.
- Cox CL, Sherman SM. 2000. Control of dendritic outputs of inhibitory interneurons in the lateral geniculate nucleus. *Neuron* 27, 597-610.
- Cucchiari JB, Bickford ME, Sherman SM. 1991. A GABAergic projection from the pretectum to the dorsal lateral geniculate nucleus in the cat. *Neuroscience*; 41: 213-226.
- Cucchiari JB, Uhlich DJ and Sherman SM. 1993. Ultrastructure of synapses from the pretectum in the A laminae of the cat's lateral geniculate nucleus. *J. Comp. Neurol.* 334: 618-630.
- De Lima AD, Singer W. 1987. The brainstem projection to the lateral geniculate nucleus of the cat: identification of cholinergic and monoaminergic elements. *J Comp Neurol* 259-92-121.
- DeLong MR, Crutcher MD, Georgopoulos AP. 1983. Relations between movement and single cell discharge in the substantia nigra of the behaving monkey. *J Neurosci* 3:1599-1606.

- Dow RS. 1942. The evolution and anatomy of the cerebellum. *Biol Rev Cambridge Phil Soc* 17:179-220.
- Dzirasa K, Ribeiro S, Costa R, Santos LM, Lin SC, Grosmark A, Sotnikova TD, Gainetdinov RR, Caron MG, Nicolelis MA. 2006. Dopaminergic control of sleep-wake states. *J Neurosci* 26(41):10577-89.
- Emre M. 2003. Dementia associated with Parkinson's disease. *Lancet Neurol* 2:229-237.
- Erickson SL, Lewis DA. 2004. Cortical connections of the lateral mediodorsal thalamus in cynomolgus monkeys. *J Comp Neurol* 473,107-127.
- Erişir A, Van Horn SC, Bickford ME, Sherman SM. 1997. Immunocytochemistry and distribution of parabrachial terminals in the lateral geniculate nucleus of the cat: A comparison with corticogeniculate terminals. *J. Comp. Neurol* 377: 535-549.
- Feig S, Harting JK. 1994. Ultrastructural studies of the primate lateral geniculate nucleus: Morphology and spatial relationships of axon terminals arising from the retina, visual cortex (area 17), superior colliculus, parabigeminal nucleus, and pretectum of *Galago crassicaudatus*. *J Comp Neurol* 343, 17-34.
- García-Cabezas, M.A. 2006. Inervación dopaminérgica del tálamo del hombre y de monos macacos. Madrid. Universidad Autónoma de Madrid.
- García-Cabezas MA, Rico B, Sánchez-González MA, Cavada C. 2007. Distribution of the dopamine innervation in the macaque and human thalamus. *Neuroimage* 34:965-984.
- Gaspar P, Stepniewska I, Kaas JH, 1992. Topography and collateralization of the dopamine projections to motor and lateral prefrontal cortex in owl monkeys. *J Comp Neurol*, 325: 1-25.
- Giménez-Amaya JM, McFarland RN, de las Heras S, Haber SN. 1995. Organization of thalamic projections to the ventral striatum in the primate. *J Comp Neurol* 354: 127-149.
- Georgopoulos AP, DeLong MR, Crutcher MD. 1983. Relations between parameters of step-tracking movements and single cell discharge in the globus pallidus and subthalamic nucleus of the behaving monkey. *J Neurosci* 3:1586-1598.
- Goldman-Rakic PS, Porrino LJ. 1985. The primate mediodorsal (MD) nucleus and its projections to the frontal lobe. *J Comp Neurol* 242: 535-560.
- Govindaiah y Cox CL. 2004. Synaptic activation of metabotropic glutamate receptors regulates dendritic outputs of thalamic interneurons. *Neuron* 41, 611-623.

- Gray EG. 1959. Axo-somatic and Axodendritic synapses of the cerebral cortex. An electron microscope study. *J Anat (Lon.)* 1985; 93: 420-433.
- Groenewegen HJ, 1988. Organization of the afferent connections of the mediodorsal thalamic nucleus in the rat, related to the mediodorsal-prefrontal topography. *Neuroscience* 24, 379-431.
- Guiguere M, Goldman-Rakic PS. 1988. Mediodorsal nucleus: Areal, laminar, and tangential distribution of afferents and efferents in the frontal lobe of Rhesus monkeys. *J Comp Neurol* 277: 195-213.
- Guillery RW. 1966. A study of Golgi preparations from the dorsal lateral geniculate nucleus of the adult cat. *J Comp Neurol* 128:21-50.
- Guillery RW. 1967. A light and electron microscopical study of neurofibrils and neurofilaments at neuro-neuronal junctions in the dorsal lateral geniculate nucleus of the cat. *Am J Anat* 120: 583-604.
- Hamos JE, Van Horn SC, Raczkowski D, Uhlrich DJ and Sherman SM. 1985. Synaptic connectivity of a local circuit neurone in lateral geniculate nucleus of the cat. *Nature* 317: 618-621.
- Hamos, JE, Van Horn SC, Sherman SM. 1986. Synaptic circuitry of an individual retinogeniculate axon from a retinal Y-cell. *Society for Neuroscience* 12, 1037.
- Harting JK, Huerta MF, Frankfurter AJ, Strominger NL, Royce GJ. 1980. Ascending pathways from the monkey superior colliculus: an autoradiographic analysis. *J Comp Neurol* 19
- Hassler RG, Mundinger F, Riechert T. 1979. Stereotaxis in Parkinson Syndrome. *Clinical-Anatomical Contribution to its Pathophysiology*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag.
- Heckers S, Geula C, Mesulam M. 1992. Cholinergic innervation of the human thalamus: dual origin and differential nuclear distribution. *J Comp Neurol* 325: 68-82.
- Hendry SHC. 1991. Delayed reduction in GABA and GAD immunoreactivity of neurons in the adult monkey dorsal lateral geniculate nucleus following monocular deprivation or enucleation. *Exp Brain Res* 86:47-59.
- Herrero MT, Barcia C, Navarro JM. 2002. Functional anatomy of thalamus and basal ganglia. *Childs Nerv Syst* 18: 386-404.

- Hoover JE, Strick PL. 1999. The organization of cerebellar and basal ganglia outputs to primary motor cortex as revealed by retrograde transneuronal transport of herpes simplex virus type 1. *J Neurosci* 19, 1446-1463.
- Hunt CA, Pang DZ, Jones EG. 1991. Distribution and density of GAB cells in intralaminar and adjacent nuclei of monkey thalamus. *Neuroscience* 43:185-196.
- Ilinsky IA, Jouandet ML, Goldman-Rakic PS. 1985. Organization of the nigrothalamocortical system in the rhesus monkey. *J Comp Neurol* 236, 315-330.
- Ilinsky IA, Kultas-Ilinsky K. 1987. Sagittal cytoarchitectonic maps of the Macaca mulatta thalamus with a revised nomenclature of the motor-related nuclei validated by observations on their connectivity. *J Comp Neurol* 262, 331-364.
- Ilinsky IA, Kultas-Ilinsky K. 1990. Fine structure of the magnocellular subdivision of the ventral anterior thalamic nucleus (VAmc) of Macaca mulatta: I. Cell types and synaptology. *J Comp Neurol* 294:455-478.
- Ilinsky I, Tourtellotte WG, Kultas-Ilinsky K. 1993. Anatomical distinctions between two basal ganglia afferent territories in the primate motor thalamus. *Stereotact Funct Neurosurg* 60:62-69.
- Ilinsky IA, Yi H, Kultas-Ilinsky K. 1997. Mode of termination of pallidal afferents to the thalamus: a light and electron microscopic study with anterograde tracers and immunocytochemistry in Macaca mulatta. *J Comp Neurol* 386, 601-612.
- Ilinsky IA, Ambardekar AV, Kultas-Ilinsky K. 1999. Organization of projections from the anterior pole of the nucleus reticularis thalami (NRT) to subdivisions of the motor thalamus: light and electron microscopic studies in the rhesus monkey. *J Comp Neurol* 409:369-84.
- Jones EG. The thalamus of primates. 1998. En: Bloom FE, Björklund A, Hökfelt T, editors. *The primate nervous system, part II*. Amsterdam: Elsevier.
- Jones EG. The thalamus. 2008. Vol 1. Second Edition. England: Cambridge.
- Kalil K. 1981. Projections of the cerebellar and dorsal column nuclei upon the thalamus of the rhesus monkey. *J Comp Neurol*; 195:25-50.
- Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM, editors. 2000. *Principles of neural science*: McGraw-Hill.
- Kievigt J HG, Kuypers JM. 1977. Organization of thalamo-cortical connections to the frontal lobe in the rhesus monkey. *Exp Brain Res* 29: 299-322.

- Kultas-Ilinsky K, Ilinsky IA, Warton S, Smith KR. 1983. Fine structure of nigral and pallidal afferents in the thalamus: An EM autoradiography study in the cat. *J Comp Neurol* 216: 390-405.
- Kultas-Ilinsky K, Ilinsky IA, 1990. Fine structure of magnocellular subdivision of the ventral anterior thalamic nucleus (VAm) of *Macaca mulatta*: II. Organization of nigrothalamic afferents as revealed with EM autoradiography. *J Comp Neurol* 294:479-489.
- Kultas-Ilinsky K, Ilinsky I. 1991. Fine structure of the ventral lateral nucleus (VL) of the *Macaca mulatta* thalamus: cell types and synaptology. *J Comp Neurol* 314, 319-349.
- Kultas-Ilinsky K, Yi H, Ilinski I. 1995. Nucleus reticularis thalami input to the anterior thalamic nuclei in the monkey: light and electron microscopic study. *Neurosci Lett* 186:25-28.
- Kultas-Ilinsky K, Reising L, Yi H, Ilinsky IA. 1997. Pallidal afferent territory of the *Macaca mulatta* thalamus: neuronal and synaptic organization of the VAdc. *J Comp Neurol* 386, 573-600.
- Künzle H y Akert K, 1977. Efferent connections of cortical, area 8 (frontal eye field) in *Macaca fascicularis*. A reinvestigation using the autoradiographic technique. *J Comp Neurol*, 173:147-164.
- Lang AE. 2003. Corticobasal degeneration: selected developments. *Mov Disord* 18(suppl6):S51-56.
- Leiner HC, Leiner AL, Dow RS. 1993. Cognitive and language functions of the human cerebellum. *Trends Neurosci* 16:444-454.
- Lewis DA, Melchitzky DS, Sesack SR, Whitehead RE, Levey AI, Auh S, Sampson AR. 2001. Dopamine transporter immunoreactivity in monkey cerebral cortex: regional, laminar and ultrastructural localization. *J Comp Neurol*; 432: 119-138.
- Lieberman AR, Spacek J. 1997. Filamentous contacts: the ultrastructure and three-dimensional organization of specialized no-synaptic interneuronal appositions in thalamic relay nuclei. *Cell Tissue Res* 288: 43-57.
- Matelli M. 1989. Thalamic input to inferior area 6 and area 4 in the macaque monkey. *J Comp Neurol*. 280;468-488.
- Melchitzky DS, Lewis DA. 2001. Dopamine transporter-immunoreactive axons in the mediodorsal thalamic nucleus of the macaque monkey. *Neuroscience* 103: 1033-1042.

- Melchitzky DS, Erickson SL, Lewis DA, 2006. Dopamine innervation of the monkey mediodorsal thalamus: Location of projection neurons and ultrastructural characteristics of axon terminals. *Neuroscience* 143 (4): 1021-30.
- Middleton FA, Strick PL. 1997. Dentate output channels: motor and cognitive components. *Prog Brain Res* 114:553-566.
- Montero VM. 1987. Ultrastructural identification of synaptic terminals from the axon of type 3 interneurons in the cat lateral geniculate nucleus. *J Comp Neurol* 264: 268-283.
- Montero VM. 1991. A quantitative study of synaptic contacts on interneurons and relay cells of the cat lateral geniculate nucleus. *Exp Brain Res* 86: 257-270.
- Montero VM, Scott GL. 1981. Synaptic terminals in the dorsolateral geniculate nucleus from neurons of the thalamic reticular nucleus: a light and electron microscope autoradiographic study. *Neuroscience* 6, 2561-2577.
- Montero VM, Zempel J. 1986. The proportion and size of GABA-immunoreactive neurons in the magnocellular and parvocellular layers of the lateral geniculate nucleus of the rhesus monkey. *Exp Brain Res* 62:215-223.
- Nicholson C, Rice ME. 1991. Diffusion of ions and transmitters in the brain cell microenvironment. En: *Volume Transmission in the Brain: Novel Mechanism for Neural Transmission*. Fuxe K & Agnati LF editors. New York: Raven Press. Ltd. P 279-294
- Oeth KM, Lewis DA, 1992. Cholecystokinin- and dopamine-containing mesencephalic neurons provide distinct projections to monkey prefrontal cortex. *Neurosci Lett*, 145, 87-92.
- Olszewski J. 1952. The thalamus of the *Maccaca mulatta*. An atlas for use with the stereotaxic instrument. Basel: S. Karger.
- Ottersen OP, Storm-Mathisen J. 1984. GABA-containing neurons in the thalamus and pretectum of the rodent. An immunocytochemical study. *Anat Embryol (Berl)* 170:197-207.
- Papadopoulos GC, Parnavelas JG. 1990. Distribution and synaptic organization of dopaminergic axons in the lateral geniculate nucleus of the rat. *J Comp Neurol* 294: 356-361.
- Parent A, Mackey A, De Bellefeuille L. 1983. The subcortical afferents to caudate nucleus and putamen in primate: a fluorescence retrograde double labeling study. *Neuroscience* 10: 1137-1150.

- Passingham RE. 1975. Changes in the size and organization of the brain in man and his ancestors. *Brain Behav Evol* 11:73-90.
- Perea G, Araque A. 2010. GLIA modulates synaptic transmission. *Brain Res Rev* 63 (1-2):93-102.
- Peters A, Palay SL, Webster HD. 1991. *The Fine Structure of the Nervous System*. Oxford University Press, New York.
- Ramón y Cajal S. *Textura del Sistema Nervioso del Hombre y de los Vertebrados*. Madrid: N. Moya. 1904.
- Rapisardi SC, Miles TP. 1984. Synaptology of retinal terminals in the dorsal lateral geniculate nucleus of the cat. *J Comp Neurol* 223: 515-534.
- Rispal-Padel. 1993. Contribution of cerebellar afferents to the organization of motor synergy. *Rev Neurol* 149:716-727.
- Rose JE. 1942. The thalamus of the sheep: cellular and fibrous structure and comparison with pig, rabbit and cat. *J Comp Neurol* 77:469-523.
- Rouiller EM, Liang F, Babalian A, Moret V, Wiesendanger M. 1994. Cerebellothalamocortical and pallidothalamocortical projections to the primary and supplementary motor cortical areas: a multiple tracing study in macaque monkeys. *J Comp Neurol* 345, 185-213.
- Russ H, Staudt K, Martel F, Gliese M, Schömig E. 1996. The extraneuronal transporter for monoamine transmitters exists in cells derived from human central nervous system glia. *European Journal of Neuroscience* 8: 1256-1264.
- Sánchez-González MA. 2004. *Origen de la inervación dopaminérgica del tálamo en monos macacos*. Madrid. Universidad Autónoma de Madrid.
- Sánchez-Gonzalez MA, García-Cabezas MA, Rico B, Cavada C. 2005. The primate thalamus is a key target for brain dopamine. *J Neuroscience* 25 (26): 6076-83.
- Schell GR, Strick PL. 1984. The origin to thalamic inputs to the arcuate premotor and supplementary motor areas. *J Neurosci* 4, 539-560.
- Schultz W. 2002. Getting formal with dopamine and reward. *Neuron* 36, 241-263.
- Schwartz ML, Dekker JJ, Goldman-Rakic PS. 1991. Dual mode of corticothalamic synaptic termination in the mediodorsal nucleus of the rhesus monkey. *J Comp Neurol* 309: 289-304.
- Schwartz ML, Mrzljak L. 1993. Cholinergic innervation of the mediodorsal thalamic nucleus in the monkey: ultrastructural evidence supportive of functional diversity. *J Comp Neurol* 327:48-62.

- Sherman SM, Guillery RW. 1998. On the actions that one nerve cell can have on another: distinguishing “drivers” from “modulators”. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 7121-7126.
- Sherman SM, Guillery RW. 2006. *Exploring the thalamus*. Cambridge, London: the Massachusetts Institute of Technology Press.
- Sherman SM, Koch C. 1998. Thalamus. En: Shepherd GM, editor. *The synaptic organization of the brain*. New York: Oxford University Press.
- Tai Y, Yi H, Ilinsky IA, Kultas-Ilinsky K. 1995. Nucleus reticularis thalami connections with the mediodorsal thalamic nucleus: a light and electron microscopic study in the monkey. *Brain Res Bull* 38:475-488.
- Tobias TJ. 1975. Afferents to prefrontal cortex from the thalamic mediodorsal nucleus in the rhesus monkey. *Brain Res*; 83: 191-212.
- Uno M, Ozawa N, Yoshida M. 1978. The mode of pallidothalamic transmisión investigated with intracellular recording from the cat thalamus. *Exp Brain Res* 33:493-507.
- Van der Werf YD, Witter MP, Uylings HB, Jolles J. 200. Neuropsychology of infarctions in the thalamus: a review. *Neuropsychologia* ; 38: 613-627.
- Van Horn SC, Erişir A, Sherman SM. 2000. The relative distribution of synapses in the A-laminae of the lateral geniculates nucleus of the cat. *J Comp Neurol* 416, 509-520.
- Vidnyánszky Z, Hátori J. 1994. Quantitative electron microscopic analysis of synaptic input from cortical areas 17 and 18 to the dorsal lateral geniculate nucleus in cats. *J Comp Neurol* 349: 259-268.
- Vitek FL, Ashe J, DeLong M, Alexander GE. 1994. Physiologic properties and somatotopic organization of the primate motor thalamus. *J Neurophysiol* 71:1498-1513.
- Yi H, Ilinsky IA, Kultas-Ilinsky K. 1993. Reticular thalamic nucleus input to the nuclei of the monkey thalamus: light and electron microscopic study. *Soc Neurosci. Abstr* 19:1436.
- Wang S, Bickford ME, Van Horn SC, Erişir A, Godwin DW, Sherman SM. 2001. Synaptic targets of thalamic reticular nucleus terminals in the visual thalamus of the cat. *J Comp Neurol* 440, 321-341.

- Weber AJ, Kalil RE and Behan M. 1989. Synaptic connections between corticogeniculate axons and interneurons in the dorsal lateral geniculate nucleus of the cat. *J Comp Neurol* 289: 156-164.
- Wilson JR, Friedlander MJ, Sherman SM. 1984. Fine structural morphology of identified X- and Y-cells in the cat's lateral geniculate nucleus. *Proc Roy Soc Lond B* 221: 411-436.
- Wilson JR, Forestner DM, Cramer RP. 1996. Quantitative analyses of synaptic contacts of interneurons in the dorsal lateral geniculate nucleus of the squirrel monkey. *Vis Neurosci* 13: 1129-1142.
- Wilson JR, Manning KA, Forestner DM, Counts SE, Uhlrich DJ. 1999. Comparison of cholinergic and histamatergic axons in the lateral geniculate complex of the macaque monkey. *Anatomical Record* 255, 295-305.
- Zoli M, Torri C, Ferrari R, Jansson A, Zini I, Fuxe K, Agnati LF. 1998. The emergence of the volume transmission concept. *Brain Res Rev* 26: 136-147.

Artículo de investigación número 1:

**DOPAMINE INNERVATION IN THE
THALAMUS: MONKEY VERSUS RAT**

(2009) Cerebral Cortex, 19: 424-434

Artículo de investigación número 2:

**ULTRASTRUCTURE OF THE
DOPAMINE INNERVATION IN THE
PALLIDAL AND NIGRAL TERRITORIES
OF THE VENTRAL NUCLEI OF THE
MONKEY THALAMUS**

(2010) Enviado para evaluación

**ULTRASTRUCTURE OF THE DOPAMINE INNERVATION IN
THE PALLIDAL AND NIGRAL TERRITORIES OF THE
VENTRAL NUCLEI OF THE MONKEY THALAMUS**

**Patricia Martínez-Sánchez, Miguel Garzón, Miguel Angel García-Cabezas, and
Carmen Cavada*.**

Departamento de Anatomía, Histología y Neurociencia, Facultad de Medicina,
Universidad Autónoma de Madrid, c/Arzobispo Morcillo s/n, 28029 Madrid, Spain

*Corresponding author:

Carmen Cavada

Departamento de Anatomía, Histología y Neurociencia

Facultad de Medicina

Universidad Autónoma de Madrid

c/Arzobispo Morcillo s/n

28029 Madrid

Spain

Tel & Fax (+34) 91 497 5315

E-mail: carmen.cavada@uam.es

ABSTRACT

A thalamic dopaminergic system in primates has been recently described. The dopaminergic axons show a specific distribution pattern in the thalamus with the ventral anterior and ventral lateral motor nuclei receiving a dense innervation. Our purpose was to characterize the fine structure of the dopamine axons in the pallidal and nigral territories of the thalamus. To this end we performed immunohistochemistry for the dopamine transporter (DAT) in the ventral lateral nucleus *pars oralis* (VLo); and in the magnocellular and parvocellular subdivisions of the ventral anterior nucleus (VAmc and VApc, respectively). Electron microscopic examination revealed that the DAT immunoreactive (DAT-ir) axons were primarily small and unmyelinated, with a tortuous course when sectioned longitudinally. The DAT-ir was located mainly in the intervaricose axonal segments and far from the terminal boutons. Only few synapses were observed, three in VLo and one in VApc; all of them were classified as asymmetric. The post-synaptic profiles were mainly synaptic vesicle containing dendrites of interneurons (75%). In one synapse observed in VLo the postsynaptic element was a conventional dendrite, presumably from a projection neuron. These observations reveal that both the interneurons and the projection neurons of the motor thalamic nuclei are the targets of dopaminergic axons. Considering the synaptic morphology and that interneurons are the main target of the dopaminergic axons, we propose a main inhibitory action for dopamine in the motor thalamus. Moreover, the predominant distribution of DAT to subcellular regions far from the synaptic junctions may facilitate the neurotransmitter diffusion and its extrasynaptic actions.

KEY WORDS: Dopamine, Thalamus, Monkey, Dopamine Transporter, Ventral Anterior Nucleus, Ventral Lateral Nucleus, Electron Microscopy, Ultrastructure

INTRODUCTION

A thalamic dopaminergic system has been recently described in primates (Garcia-Cabezas and others 2007; Sanchez-Gonzalez and others 2005). Both in human and monkey, the motor ventral nuclei, as the ventral anterior (VA) and ventral lateral (VL) group, present a remarkably dense dopaminergic innervation (Garcia-Cabezas and others 2007). These ventral thalamic nuclei are the target of the major output from the basal ganglia complex, the pallido- and nigrothalamic pathways (Carpenter 1976b; Carpenter 1976b; Kim and others 1976; Kuo and Carpenter 1973).

The pallidothalamic afferents terminate mainly in two VA subdivisions: parvocellular (VApc) and densicellular (VAdc) (Ilinsky and Kultas-Ilinsky 1987). The latter subdivision is also known as the *pars oralis* of the ventral lateral nucleus (VLo) in the Olszewski's classification (Olszewski 1952). On other hand, the magnocellular subdivision of VA (VAmc) is the major recipient of the nigrothalamic projection (Carpenter 1976a).

The pallidal afferent territory is especially large in the primate thalamus, suggesting that this basal ganglia output region is of major importance in primate species (Ilinsky and Kultas-Ilinsky 1987; Olszewski 1952). This is consistent with the functional specialization of the basal ganglia output pathways in primates: the pallidothalamic output is involved mostly with the movement of extremities whereas the nigrothalamic pathway is preferentially related to the head, neck, and eye movements and control of proximal musculature (Anderson and Turner 1991; DeLong, Crutcher, Georgopoulos 1983; Georgopoulos, DeLong, Crutcher 1983; Vitek and others 1994).

The fine structure of the pallidal and nigral territories in the ventral thalamic nuclei have been extensively studied by the group of Ilinsky (Ilinsky 1990; Ilinsky and Kultas-Ilinsky 1990b; Ilinsky, Yi, Kultas-Ilinsky 1997; Kultas-Ilinsky and Ilinsky 1990; Kultas-Ilinsky and Ilinsky 1991; Kultas-Ilinsky and others 1997b). In general terms, nigral and pallidal afferents to the thalamus share many common features: both are GABAergic, have large boutons rich in mitochondria that form symmetric synapses and mostly target the proximal portion of the dendritic tree of projection neurons. Thus, thalamic projection neurons of the nigral and pallidal territories are strongly influenced by these subcortical afferents that target their proximal portions, while the distal

dendrites receive mostly cortical afferents that may act as modulators (Sherman and Guillery 2006). However, the ultrastructure of other possible modulator afferents, such as dopamine, is unknown.

Dopamine is an important transmitter molecule in the brain, essential for cognitive functions (Aosaki, Graybiel, Kimura 1994; Brozoski and others 1979; Schultz 2002) and motor control (Agid 1991). Indeed, dysfunction of dopaminergic systems is present in pathologies such as Parkinson and schizophrenia. In parallel with the recent description of the dopaminergic thalamic system, degeneration with loss of neurons has been described in several thalamic nuclei of patients with levodopa-responsive Parkinson's disease (Halliday 2009).

The purpose of the present study was to examine the ultrastructural characteristics of dopaminergic afferents in the VAmc, VApc and VLo of the monkey thalamus by using a monoclonal antibody against the dopamine transporter (DAT).

MATERIALS AND METHODS

Subjects and Tissue Preparation

The ultrastructural analysis was performed on tissue from one adult male *Macaca mulatta* monkey weighing 4.5 kg. Animal handling followed Spanish and European guidelines (Boletín Oficial del Estado of 18 March 1988, and 86/609/EEC and 2003/65/EC European Council Directives) and was approved by the Committee for Research Ethics of the Universidad Autónoma de Madrid.

Following deep anesthesia, the animal was perfused through the heart and ascending aorta with saline, a fixation solution and a series of buffered sucrose solutions for cryoprotection as described earlier (Garcia-Cabezas and others 2009). The fixation solution contained 4% paraformaldehyde and 0.2% glutaraldehyde.

The hemispheres were blocked in the coronal plane; slabs from the thalamus were dissected and then sectioned in a vibratome at 40 μ m. Series of adjacent sections were collected. One series was always processed for acetylcholinesterase (AChE) activity, which is particularly useful to identify the thalamic nuclei (Cavada and others 1995).

An additional series from the monkey hemispheres to be used for mapping was stained with cresyl violet for cytoarchitectural reference. The remaining series were stored at – 20 °C in an ethyleneglycol buffered solution or used for DAT immunostaining.

Immunohistochemistry

DAT immunostaining was performed on free-floating sections as described earlier in detail (Garcia-Cabezas and others 2007; Garcia-Cabezas and others 2009; Sanchez-Gonzalez and others 2005). In brief, the tissue was incubated in a cryoprotectant solution (25% sucrose and 3% glycerol in 0.05 M phosphate buffer) for 50 min and then rapidly freeze-thawed by immersion in liquid nitrogen to enhance the penetration of immunoreagents. Thereafter, sections were washed in several changes of cold buffer and were incubated for 72 hour in a rat monoclonal antibody (MAB369, Chemicon International, Temecula, CA, USA). This antibody corresponds to the DAT/Nt antibody generated against human DAT N-terminus aminoacids 1—66 by Ciliax et al. (Ciliax and others 1995), who demonstrated its specificity using immunoblot analysis, immunoprecipitation, preadsorption followed by immunoblotting and immunohistochemistry, and several immunohistochemical assays. MAB369 was used at a 1:1000 dilution. The secondary antiserum was AP164B, a biotinylated rabbit anti-rat antiserum, from the same company, used at a 1:400 dilution. The sections were incubated in Vectastain Elite avidin/biotin complex from Vector Labs (Burlingame, CA) prior to peroxidase development. A standard diaminobenzidine protocol (0.05% diaminobenzidine and 0.003% H₂O₂) was used to develop the sections to be processed for ultrastructural analysis.

In all immunostaining sessions, negative control sections containing structures rich in DAT, like the caudate nucleus, were run in parallel with the experimental sections. In the negative controls, the primary antibody was omitted from the protocol. No immunolabeling was observed in these negative control sections. Positive control tissue included the caudate nucleus, which was densely stained in the experimental sections.

Electron Microscope Methods

After DAT immunoreaction, the section were postfixed in 1% osmium tetroxide for 60 min, and dehydrated through a graded series of ethanol and propylene oxide. Then were incubated overnight in a 1:1 mixture of propylene oxide and Epon resin (EM bed-812;

Electron Microscopy Sciences, Fort Washington, PA), transferred to Epon 100% for 2-3 h, flat-embedded between 2 sheets of Aclar plastic film, and cured in an oven at 58 °C for 72 h. Immunostained sections were compared with AChE as well the cresyl violet sections for distinguishing the various monkey ventral nuclei (Figure 1). In addition to our earlier studies on AChE activity in the monkey thalamus (Cavada and others 1995), reference atlases were used to identify the monkey thalamic nuclei (Olszewski 1952; Ilinsky and Kultas-Inlinsky K. 2002). The nomenclature used for the thalamic nuclei is based on Olszewski (1952). Small portions (approx. 3-4mm²) of the VAmc, VApc and VLo nuclei were selected using a dissecting magnifying microscope, cut from the sections and glued onto resin blocks. Ultrathin tissue sections (40-60 nm) were cut from the outer surface of the blocks and collected on copper mesh grids. The sections were counterstained for 4 min with 5% uranyl acetate in methanol followed by a solution containing 0.022 mg of lead citrate in 0.5 mL of NaOH 1 N and 4.5 mL of distilled water.

Data Analysis

The ultrastructural analysis was conducted with a Jeol JEM 1010 electron microscope. Electron micrographs at 20000x, 40000x and 80000x magnifications were taken with a digital camera (BioScan—GATAN, Pleasanton, CA) and saved in TIFF format. The micrographs were from ultrathin sections collected near the surface of the tissue at the interface with the Epon embedding resin. The classification of cellular profiles was based on the descriptions of Peters et al. (Peters, Palay, Webster 1991). Dendrites were identified by the presence of postsynaptic densities and/or an abundance of rugose endoplasmic reticulum (RER) and microtubules. Axons were recognized by their small caliber, smaller than any dendritic profile, and by their lack of ribosomes. When sectioned transversely, axons had smooth contours and were often grouped in bundles. Axons cut longitudinally usually displayed varicosities with vesicles. Synapses were defined as either symmetric or asymmetric depending on the respective presence of thin or thick postsynaptic specializations. Nonsynaptic contacts or appositions were defined as close membranous associations that lacked recognizable specializations. The contacted profiles were classified as vesicle containing of conventional dendrites. A neuronal profile was considered to be selectively labeled with immunoperoxidase when the precipitate made it appear more electron dense than morphologically similar profiles observed within the same section. All DAT-ir profiles were identified based on the

morphological characteristics of the tissue and the presence of DAT immunolabeling. Quantitative assessment of the diameter, perimeter and surface area of the DAT-ir profiles were measured using the public domain NIH ImageJ 1.6 program (developed at the US National Institutes of Health and available on the Internet at <http://rsb.info.nih.gov/nih-image/>).

Canvas X software (ACD Systems, Miami, FL) was used to build and label all the Figures. Retouching of the micrographs included gray scale rendering, transparency adjustments, and small changes of brightness and contrast.

RESULTS

The general ultrastructural pattern of the VLo, VAmc y VApc was quite similar. Somata of projection neurons, interneurons and glia were observed; in VAmc and VLo the size of neuronal somata was greater than in VApc. Complex synaptic arrangements such as glomeruli were absent. Triads were occasionally found.

Presynaptic profiles in the neuropil

VLo

Four types of presynaptic profiles were found in VLo. The first type were large axon terminals with numerous pale mitochondria and compact round vesicles, classified as RL (Round vesicles, Large terminal) (Sherman and Guillery 2006). The mean area of these boutons was $1.09 \mu\text{m}^2$ (SD = 0.73). These profiles were not frequent in VLo and formed asymmetric synapses with secondary or tertiary dendrites. The second type of boutons was also filled with round vesicles in a very compact manner. These profiles are known as RS type (Round vesicles, Small terminal) (Sherman and Guillery 2006) (Figure 2). The RS boutons formed asymmetric contacts and were seen very frequently in the neuropil; their mean area was $0.40 \mu\text{m}^2$ (SD = 0.09) and their size was quite heterogeneous. The third type of presynaptic profiles consisted of large axon terminals that displayed numerous mitochondria and moderate amounts of pleomorphic vesicles. These profiles are commonly known as F1 profiles (flattened vesicles) (Sherman and Guillery 2006) and form symmetric synapses and numerous puncta adhaerentia with dendrites. The mean area was $1.6 \mu\text{m}^2$ (SD = 0.73). In addition, a

fourth group of boutons with pleomorphic vesicles but with smaller size could also be distinguished. This last population of boutons was represented by pale profiles containing clustered pleomorphic vesicles, occasional microtubules and ribosomes, and some mitochondria, and formed symmetric synapses. These profiles were also postsynaptic to other type of boutons or similar profiles. These profiles are known as F2 type boutons (Sherman and Guillery 2006); in most cases they represent vesicle-containing dendrites of interneurons.

VApc

In this nucleus also four types of axons were found. The RL type was markedly smaller than in the VLo nucleus (mean area $0.49 \mu\text{m}^2$, SD = 0.39) and was found infrequently in the neuropil. These boutons formed asymmetric synapsis on dendrites. The RS type was represented by small to medium-sized boutons (mean area $0.14 \mu\text{m}^2$, SD = 0.02) with round vesicles and also asymmetric contacts. Again, these profiles were smaller than those of the VLo nucleus. The major type of F1 boutons was medium-sized (mean area $0.45 \mu\text{m}^2$, SD = 0.06), formed symmetric contacts, contained moderate amounts of flattened vesicles, a large number of mitochondria, and displayed numerous puncta adhaerentia. The F1 boutons were on average half-sized than those in the VLo nucleus.

VAmc

The four types of boutons with similar types of synapsis were also found in VAmc. Profiles containing round vesicles had an area in-between those of VLo and VApc: $0.82 \mu\text{m}^2$ (SD = 0.25) for LR and $0.25 \mu\text{m}^2$ (SD 0.05) for RS. However, and the area of F1 boutons was larger ($2.05 \mu\text{m}^2$, SD 0.6)

Ultrastructure of Macaque DAT-ir Axons

VLo

The majority of the 148 DAT-immunoreactive (-ir) axons found were unmyelinated (n = 138). These axons were varicose, and very thin; they were all in neuropil of VLo, and, when cut longitudinally, they had a tortuous and irregular course. The DAT immunoreaction product showed a discrete localization to restricted segments of the axons: it was present either in intervaricose spaces or in varicose enlargements, but was not detected in terminal enlargements (boutons terminaux). Of these DAT-ir axons, 96

(65.3%) showed the immunoperoxidase reaction product apposed mainly to the inner surface of the plasmalemma and was intensely electron dense, although it was also apposed to the cytoplasm, vesicles and other organelles less intensely. We name this pattern of labeling DAT-Type I. In one third of the axons (29.3%) the immunoperoxidase was also apposed to the plasmalemma but showed a preferential localization of the DAT immunoprecipitate within the cytoplasm and axonal organelles. We name this pattern of labeling DAT-Type II. Overall, the immunoprecipitate was paler in axons with DAT-Type II than in those with DAT-Type I immunolabeling. In the remaining 5.8% of the axons, the immunolabeling was located within the cytoplasm and mostly associated to microtubules, whereas the plasmalemma was devoid of immunoprecipitate. We name this pattern of labeling DAT-Type III.

The mean cross-section diameter of axons with DAT-Type I immunolabeling was 0.19 μm (SD = 0.06), their mean perimeter was 1.05 μm (SD = 0.25), and mean surface area was 0.04 μm^2 (SD = 0.03). The mean diameter of axons with DAT-Type II immunolabeling was 0.33 μm (SD = 0.08), their mean perimeter was 1.05 μm (SD = 0.25), and mean surface area was 0.05 μm^2 (SD = 0.02). The mean diameter of axons with DAT-Type III immunolabeling was 0.38 μm (SD = 0.10), their mean perimeter was 1.19 μm (SD = 0.34), and mean surface area was 0.06 μm^2 (SD = 0.03). Because in cross-section a mean diameter may include measurements of both varicosities and intervaricose segments, we also measured the diameters of varicosities and intervaricose segments in longitudinally cut DAT-ir axons (n = 59). The mean diameter of varicosities for axons with DAT Type I and DAT-Type II labeling patterns was 0.26 μm (SD = 0.08) and 0.25 μm (SD = 0.05), respectively; and the mean diameter of intervaricose segments was 0.11 μm (SD = 0.03) and 0.12 μm (SD = 0.03). We did not find DAT Type III axons cut longitudinally. This indicates that the diameters of varicosities and intervaricose segments in axons with DAT-Type I, DAT-Type II labelling patterns are similar and that the measurements made in cross-section probably contained a larger number of varicosities for axons with DAT-Type II pattern (and presumably for DAT-Type III) than for axons with DAT-Type I labeling pattern. One dense core vesicle (DCV) was observed in a varicosity of a DAT-Type II axon cut transversely, which also contained round vesicles.

Very few boutons terminaux (n=3) were observed; they presented a medium size (mean area 0.58 μm^2 , SD = 0.17). In all of them the immunoprecipitate appeared distant from

the synaptic contact, at a mean distance of 0.52 μm (SD = 0.14). The three axons were classified as DAT-Type I immunolabeling and all displayed specialized synaptic junctions (Figure 3): the three synapses were asymmetric; in two of them, the postsynaptic profile was a dendrite with vesicles, which is characteristic of presynaptic dendrites from thalamic interneurons; in the third terminal, the postsynaptic profile was a conventional dendrite of a projection neuron. This dendrite presented also another synaptic contact from a non-immunoreactive RS profile (Figure 3). In addition, one axon with DAT-Type III immunolabeling established an appositional contact without membrane specializations, classified as a desmosome. The contacted profile was a dendrite devoid of vesicles, thus presumed to be a projection neuron dendrite. No axo-somatic contacts were observed.

Finally, eight axons were myelinated and showed the immunolabeling located within the cytoplasm. These profiles were large-sized with a mean diameter of 1.047 μm (SD = 0.20), mean perimeter of 3.29 μm (SD = 0.63), and mean surface area of 0.42 μm^2 (SD = 0.12).

VApc

The neuropil of VApc showed less DAT-ir axons than the neuropil of VLo. Most of them were also unmyelinated (N = 77) although one myelinated DAT-ir axon was observed. The unmyelinated axons were also varicose, and very thin and, when cut longitudinally, they had a tortuous and irregular course, like in VLo. DAT immunoreaction product showed a discrete localization to restricted segments of the axons and was not detected in terminal enlargements. Of these DAT-ir axons, 59 (75.6%) showed a DAT-Type I pattern of labeling; 18 (23.1%) a DAT-Type II and 1 (1.3%) a DAT-Type III.

The mean cross-section diameter of axons with DAT-Type I immunolabeling was 0.15 μm (SD = 0.09), their mean perimeter was 0.95 μm (SD = 0.29), and mean surface area was 0.02 μm^2 (SD = 0.03). The mean diameter of axons with DAT-Type II immunolabeling was 0.37 μm (SD = 0.29), their mean perimeter was 1.16 μm (SD = 0.91), and mean surface area was 0.02 μm^2 (SD = 0.01). The diameter of the only one axon with DAT-Type III immunolabeling was 0.29 μm , its perimeter was 0.93 μm and

mean surface area $0.02 \mu\text{m}^2$. Two axons contained a DCV, one was a DAT-Type I and the other a DAT-Type II.

All the DAT-ir axons cut longitudinally were DAT-Type I. The mean diameter of the varicose and intervaricose segments was 0.27 (SD = 0.04) and 0.07 (SD = 0.02), respectively.

Two boutons terminaux were observed. They presented also a medium to large size (mean area $0.26 \mu\text{m}^2$, SD = 0.09). In all cases the immunoprecipitate appeared distant from the synaptic contact, at a mean distance of $0.41 \mu\text{m}$ (SD = 0.20). In one case the bouton formed a specialized synaptic contact that occurred in axons with DAT-Type I immunolabeling. This synaptic junction was asymmetric and the postsynaptic profile was a dendrite with vesicles of an interneuron. No axo-somatic contacts were observed. Furthermore, one axon with DAT-Type I immunolabeling established an appositional contact without membrane specializations, classified as puncta adherentia. The contacted profile was a dendrite with vesicles, thus presumed to be an interneuron dendrite.

The myelinated axon was observed in the transversal plane and presented a diameter of $0.71 \mu\text{m}$, perimeter of $1.4 \mu\text{m}$ and surface area of $0.24 \mu\text{m}^2$.

VAmc

The territory of VAmc held very few DAT-ir axons: only ten were observed, nine unmyelinated and one myelinated.

The unmyelinated axons were similar to those in VLo and VApc: varicose and very thin. DAT immunoreaction product also was restricted in segments of the axons and was not detected in terminal enlargements. Of these DAT-ir axons, 2 (20%) showed a DAT-Type I pattern of labeling; 6 (60%) a DAT-Type II and 2 (20%) a DAT-Type III.

All the DAT-ir axons were cut transversely. The mean cross-section diameter of axons with DAT-Type I immunolabeling was $0.20 \mu\text{m}$ (SD = 0.10), their mean perimeter was $0.60 \mu\text{m}$ (SD = 0.10), and mean surface area was $0.02 \mu\text{m}^2$ (SD = 0.01). The mean diameter of axons with DAT-Type II immunolabeling was $0.25 \mu\text{m}$ (SD = 0.31), their mean perimeter was $0.76 \mu\text{m}$ (SD = 0.09), and mean surface area was $0.02 \mu\text{m}^2$ (SD =

0.01). The mean diameter of axons with DAT-Type III immunolabeling was 0.66 μm , their mean perimeter was 2.10 μm and mean surface area 0.10 μm^2 .

Neither boutons terminaux nor synaptic junctions were observed.

The myelinated axon was also sectioned transversely and presented a diameter of 1.08 μm , perimeter of 3.4 μm and surface area of 0.50 μm^2 .

DISCUSSION

This study reveals that DAT-ir axons in the VLo, VApc and VAmc nuclei of the macaque are fine and varicose, most of them unmyelinated. Moreover, the dopamine innervation appears denser in VLo than in VApc and VAmc. In VLo and VApc, the DAT-ir axons form asymmetric synapses mainly with vesicle-containing dendrites, although one contact on a conventional dendrite was also observed. The DAT immunoreactivity was observed relatively far from the synapses, in the extra-synaptic portions of the axons.

The differences in the numbers of DAT-ir axons observed in the nuclei analyzed (VLo: $n=148$, VApc: $n=78$, VAmc: $n=10$) are consistent with our previous data on the dopamine innervation of the thalamus in macaque monkeys (Garcia-Cabezas and others 2007): the maps of DAT-ir axons distribution identified with light microscopy showed that the motor nuclei were densely, although unevenly, innervated by dopamine, with the VLo containing denser immunolabeling than VApc and VAmc. In the human thalamus, however, VAmc is one of the most densely innervated thalamic nuclei (Garcia-Cabezas and others 2007).

Morphological features of DAT-ir axons and terminals

The vast majority of the 236 DAT-ir axons identified in the monkey VLo, VApc and VAmc nuclei were unmyelinated, varicose and very thin, less than 0.2 μm in diameter. These observations are similar to those previously described in the mediodorsal (MD) nucleus of macaque thalamus (Garcia-Cabezas and others 2009; Melchitzky, Erickson, Lewis 2006). Based on the characteristics of the immunoprecipitate, we identified 3 immunolabeling patterns, similar to those described in the MD (Garcia-Cabezas and others 2009). In the majority of the DAT-ir axons (94.6%, 98.7% and 80% in VLo, VApc and VAmc, respectively) the immunoprecipitate was apposed to the inner

plasmalemma surface (this defined the DAT-Type I and DAT-Type II immunolabeling patterns, distinguished by their intense or pale immunoprecipitate, respectively); in the remaining axons the immunoprecipitate was confined to the cytoplasm and was mostly linked to microtubules (DAT-Type III immunolabeling). The diameter of the DAT-ir axons varicosities was in a range of 0.25-0.27 μm in the nuclei here examined. These data differ from the MD nucleus, where the varicosities were smaller, with a mean diameter of 0.16 μm (Garcia-Cabezas and others 2009). Previous studies concluded that the ultrastructure of DAT-ir axons in the MD is more similar to that in the cerebral cortex, with the immunoprecipitate located in certain segment of the dopamine axon, where these axons have a small diameter (Lewis and others 2001). However, in the VLo, VApc and VAmc the mean diameter of the varicosities was larger, similar to those of the caudate nucleus. In contrast to the striatum, where DAT immunolabeling is present in all segments of the axons (Lewis and others 2001), the immunoreactivity in the motor nuclei of the thalamus was located in specific axonal segments. Further analyses are needed to clarify the functional implication of these differences.

Three axons contained dense core vesicles, one in VLo and two in VApc. Previous studies have shown the presence of dense core vesicles in dopaminergic somata and dendrites that usually contain neurotensin or cholecystokinin (Pickel and Sesack 2002). To our knowledge, the presence of dense core vesicles in dopaminergic axons has never been documented in primates or rodents (Nirenberg and others 1997; Liu and Jones 1991; Lewis and others 2001; Melchitzky and others 2006). The presence of dense core vesicles in DAT-ir axons suggests that thalamic dopaminergic axons in the primate may contain other neurotransmitters.

In the relatively large number of DAT-ir axons examined we were able to identify five terminal enlargements, three in VLo and two in VApc. Four of these boutons showed synaptic specializations. The mean area of these terminals was 0.58 μm^2 (0.14) and 0.41 μm^2 (0.20) for VLo and VApc, respectively. The terminal enlargements in DAT-ir axons were generally larger than the average size in the nucleus and showed dense packing of synaptic vesicles. They appear similar to a class RS boutons described by Kultas-Ilinsky and colleagues: some of those boutons originated from motor and premotor cortices in VLo (Kultas-Ilinsky and others 1997a) and from prefrontal cortex in VAmc (Ilinsky and Kultas-Ilinsky 1990a). It should be noted that the RS boutons are quite numerous in the neuropil of ventral motor nuclei of the macaque thalamus and

show large size variations, suggesting heterogeneity in their sites of origin and presumably also in other features, such as neurotransmitter content (Ilinsky and Kultas-Ilinsky 1990a; Ilinsky, Yi, Kultas-Ilinsky 1997; Kultas-Ilinsky and others 1997a). The DAT-ir axonal enlargements in VLo and VApc observed in the present study probably correspond to the group of largest RS profiles because their mean area is higher than the mean area of the remaining unlabeled RS. In general, RS profiles in the thalamus represent a mixed population of afferent terminals, including modulator afferents from cortex and from brainstem (Sherman and Guillery 2006). The observation that terminals of DAT-ir axons are of RS type is in accordance with the proposed modulator function of dopamine in the thalamus.

Synapsis and postsynaptic targets of DAT-ir axons

Four synaptic junctions were observed in the labeled axons; all of them were asymmetric. Three synapses were found in the VLo nucleus; in two the postsynaptic profile was a vesicle containing dendrite of a thalamic interneuron, and in one a conventional dendrite of a projection neuron. In VApc, one synaptic junction was observed, and the postsynaptic profile was a vesicle containing dendrite of a thalamic interneuron. No synaptic specializations were observed in VAmc.

Few studies have been able to identify synapses and postsynaptic profiles formed by catecholaminergic axons in the monkey thalamus. In the present study, we identified synaptic junctions in only 2% and 1.2% of the DAT-ir axons in the VLo and VApc of the monkey thalamus, respectively, and all within the population of axons that were cut longitudinally. Previous studies have shown similar data. In MD nucleus, we found six *bona fide* synaptic junctions among 294 DAT-ir axons, five asymmetric and one symmetric, and in all of them the postsynaptic profile was a dendrite with vesicles, presumably corresponding to an interneuron (Garcia-Cabezas and others 2009). Other studies have found synapsis in tyrosine hydroxylase (TH) immunolabeled axons; and hence, they were only putatively dopaminergic. One of these studies described only three synaptic profiles (Liu and Jones 1991) and the other another two (Melchitzky, Erickson, Lewis 2006). Among these five catecholaminergic synapses the postsynaptic element was identified in only 3 cases: it was a dendritic shaft in two (Liu and Jones 1991; Melchitzky, Erickson, Lewis 2006) and a presynaptic dendrite in the third case (Melchitzky, Erickson, Lewis 2006). The main reason for the paucity of data on

synapses and postsynaptic targets of catecholaminergic fibers in the monkey thalamus may lie in the plane of section. In the MD, the synaptic specializations appeared at a mean distance of about 0.5 μm from the DAT immunoprecipitate (Garcia-Cabezas and others 2009); then we suggested that this justified a higher probability to display synaptic specialization for axons cut longitudinally. In the monkey MD, most DAT-ir axons followed a rostro-caudal course and thus the coronal plane of section used so far (Garcia-Cabezas and others 2009; Melchitzky, Erickson, Lewis 2006) renders mostly transversely cut axons. Similarly, in the present study the synaptic junctions were observed only in DAT-ir axons cut longitudinally and these junctions appeared at a mean distance of about 0.50 μm and 0.40 μm from the DAT immunoprecipitate in VLo and VApc, respectively. No DAT-ir axons were cut longitudinally in the VAmc nucleus which can explain, at least in part, the absence of synaptic junctions in this nucleus. The parasagittal plane of section and the use of serial sections could help in the identification of more synaptic junctions (Garcia-Cabezas and others 2009).

The main synaptic targets of DAT-ir axons in VLo and VApc in the monkey thalamus were the vesicle containing dendrites of interneurons. This is similar in the monkey MD (Garcia-Cabezas and others 2009). In this previous study we proposed that the development of the interneuron population and the dopaminergic axons targeting the interneurons seem to grow in parallel in primates as compared to rodents. The data from the present study enlarge the evidence for thalamic interneurons as main targets of the dopaminergic axons, thus further supporting the hypothesis of an evolutionary relationship between the populations of interneurons and of dopamine axons.

Functional implications

In most labeled axons (94.6%, 98.7% and 80% in VLo, VApc and VAmc, respectively) the DAT immunoprecipitate was located apposed to the membrane, and when synapses were identified, the immunoprecipitate was located far from them. Also, the immunoprecipitate was located more frequently in the intervaricose spaces and away from boutons. This suggests that in the macaque motor thalamus dopamine released at the synaptic junction may undergo a substantial extracellular diffusion. Furthermore, dopamine could act at receptors that are not in the immediate vicinity of a DA terminal before being re-uptaken by DAT, as it occurs in the primate cerebral cortex (Smiley and others 1994). This possibility is compatible with a “volume” transmission mode in the

thalamic dopaminergic system comparable to that proposed for the mesostriatal and mesocortical systems, which facilitates the extrasynaptic actions of DA (Lewis and others 2001; Pickel, Nirenberg, Milner 1996; Zoli and others 1998).

Concluding remarks

Nowadays, many of the motor and non-motor symptoms of neurodegenerative disorders like Parkinson's disease (PD) and parkinsonisms are still not well understood (Rodriguez-Oroz and others 2009). Modern functional neuroimaging techniques suggest that the thalamus could be related to some of those symptoms. For example, studies with functional magnetic resonance have shown that bradykinesia is associated with a lower activation of thalamus in PD patients (Prodoehl and others 2010). Understanding the location and action of the dopamine innervation in the motor thalamus should help clarify the role of thalamic dopaminergic system in motor diseases.

References

- Agid Y. 1991. Parkinson's disease: Pathophysiology. *Lancet* 337(8753):1321-4.
- Anderson ME and Turner RS. 1991. Activity of neurons in cerebellar-receiving and pallidal-receiving areas of the thalamus of the behaving monkey. *J Neurophysiol* 66(3):879-93.
- Aosaki T, Graybiel AM, Kimura M. 1994. Effect of the nigrostriatal dopamine system on acquired neural responses in the striatum of behaving monkeys. *Science* 265(5170):412-5.
- Brozoski TJ, Brown RM, Rosvold HE, Goldman PS. 1979. Cognitive deficit caused by regional depletion of dopamine in prefrontal cortex of rhesus monkey. *Science* 205(4409):929-32.
- Carpenter MB. 1976a. Anatomical organization of the corpus striatum and related nuclei. *The Basal Ganglia* :1-36.
- Carpenter MB. 1976b. Anatomical organization of the corpus striatum and related nuclei. In: *The basal ganglia*. Yahr M.D., editor. 1st ed. New York: Raven Press. 1-36 p.
- Cavada C, Company T, Hernandez-Gonzalez A, Reinoso-Suarez F. 1995. Acetylcholinesterase histochemistry in the macaque thalamus reveals territories selectively connected to frontal, parietal and temporal association cortices. *J Chem Neuroanat* 8(4):245-57.
- Ciliax BJ, Heilman C, Demchyshyn LL, Pristupa ZB, Ince E, Hersch SM, Niznik HB, Levey AI. 1995. The dopamine transporter: Immunochemical characterization and localization in brain. *J Neurosci* 15(3 Pt 1):1714-23.
- DeLong MR, Crutcher MD, Georgopoulos AP. 1983. Relations between movement and single cell discharge in the substantia nigra of the behaving monkey. *J Neurosci* 3(8):1599-606.
- Garcia-Cabezas MA, Rico B, Sanchez-Gonzalez MA, Cavada C. 2007. Distribution of the dopamine innervation in the macaque and human thalamus. *Neuroimage* 34(3):965-84.
- Garcia-Cabezas MA, Martinez-Sanchez P, Sanchez-Gonzalez MA, Garzon M, Cavada C. 2009. Dopamine innervation in the thalamus: Monkey versus rat. *Cereb Cortex* 19(2):424-34.
- Georgopoulos AP, DeLong MR, Crutcher MD. 1983. Relations between parameters of step-tracking movements and single cell discharge in the globus pallidus and subthalamic nucleus of the behaving monkey. *J Neurosci* 3(8):1586-98.
- Halliday GM. 2009. Thalamic changes in parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 15 Suppl 3:S152-5.

- Hunt CA, Pang DZ, Jones EG. 1991. Distribution and density of GABA cells in intralaminar and adjacent nuclei of monkey thalamus. *Neuroscience* 43(1):185-96.
- Ilinsky IA. 1990. Structural and connectional diversity of the primate motor thalamus: Experimental light and electron microscopic studies in the rhesus monkey. *Stereotact Funct Neurosurg* 54-55:114-24.
- Ilinsky IA and Kultas-Ilinsky K. 2002. Stereotactic atlas of the macaca mulatta thalamus and adjacent basal ganglia nuclei. New York: Kluwer Academic.
- Ilinsky IA and Kultas-Ilinsky K. 1990a. Fine structure of the magnocellular subdivision of the ventral anterior thalamic nucleus (VAmc) of macaca mulatta: I. cell types and synaptology. *J Comp Neurol* 294(3):455-78.
- Ilinsky IA and Kultas-Ilinsky K. 1990b. Fine structure of the magnocellular subdivision of the ventral anterior thalamic nucleus (VAmc) of macaca mulatta: I. cell types and synaptology. *J Comp Neurol* 294(3):455-78.
- Ilinsky IA and Kultas-Ilinsky K. 1987. Sagittal cytoarchitectonic maps of the macaca mulatta thalamus with a revised nomenclature of the motor-related nuclei validated by observations on their connectivity. *J Comp Neurol* 262(3):331-64.
- Ilinsky IA, Yi H, Kultas-Ilinsky K. 1997. Mode of termination of pallidal afferents to the thalamus: A light and electron microscopic study with anterograde tracers and immunocytochemistry in macaca mulatta. *J Comp Neurol* 386(4):601-12.
- Kim R, Nakano K, Jayaraman A, Carpenter MB. 1976. Projections of the globus pallidus and adjacent structures: An autoradiographic study in the monkey. *J Comp Neurol* 169(3):263-90.
- Kultas-Ilinsky K and Ilinsky IA. 1991. Fine structure of the ventral lateral nucleus (VL) of the macaca mulatta thalamus: Cell types and synaptology. *J Comp Neurol* 314(2):319-49.
- Kultas-Ilinsky K and Ilinsky IA. 1990. Fine structure of the magnocellular subdivision of the ventral anterior thalamic nucleus (VAmc) of macaca mulatta: II. organization of nigrothalamic afferents as revealed with EM autoradiography. *J Comp Neurol* 294(3):479-89.
- Kultas-Ilinsky K, Reising L, Yi H, Ilinsky IA. 1997a. Pallidal afferent territory of the macaca mulatta thalamus: Neuronal and synaptic organization of the VAdc. *J Comp Neurol* 386(4):573-600.
- Kultas-Ilinsky K, Reising L, Yi H, Ilinsky IA. 1997b. Pallidal afferent territory of the macaca mulatta thalamus: Neuronal and synaptic organization of the VAdc. *J Comp Neurol* 386(4):573-600.
- Kuo JS and Carpenter MB. 1973. Organization of pallidothalamic projections in the rhesus monkey. *J Comp Neurol* 151(3):201-36.

- Lewis DA, Melchitzky DS, Sesack SR, Whitehead RE, Auh S, Sampson A. 2001. Dopamine transporter immunoreactivity in monkey cerebral cortex: Regional, laminar, and ultrastructural localization. *J Comp Neurol* 432(1):119-36.
- Liu XB and Jones EG. 1991. The fine structure of serotonin and tyrosine hydroxylase immunoreactive terminals in the ventral posterior thalamic nucleus of cat and monkey. *Exp Brain Res* 85(3):507-18.
- Melchitzky DS, Erickson SL, Lewis DA. 2006. Dopamine innervation of the monkey mediodorsal thalamus: Location of projection neurons and ultrastructural characteristics of axon terminals. *Neuroscience* 143(4):1021-30.
- Nirenberg MJ, Chan J, Pohorille A, Vaughan RA, Uhl GR, Kuhar MJ, Pickel VM. 1997. The dopamine transporter: Comparative ultrastructure of dopaminergic axons in limbic and motor compartments of the nucleus accumbens. *J Neurosci* 17: 6899-6907.
- Olszewski J. 1952. The thalamus of *maccaca mulatta*. an atlas for use with stereotaxic instrument. Basel ed. Karger.
- Ottersen OP and Storm-Mathisen J. 1984. GABA-containing neurons in the thalamus and pretectum of the rodent. an immunocytochemical study. *Anat Embryol (Berl)* 170(2):197-207.
- Peters A, Palay SL, Webster HD. 1991. The fine structure of the nervous system. New York: Oxford University Press.
- Pickel VM, Nirenberg MJ, Milner TA. 1996. Ultrastructural view of central catecholaminergic transmission: Immunocytochemical localization of synthesizing enzymes, transporters and receptors. *J Neurocytol* 25(12):843-56.
- Pickel VM, Sesack SR. Electron Microscopy of Central Dopamine Systems. In: Davis KL, Charney K, Coyle JT and Nemeroff C. Editors. *Neuropsychopharmacology: The Fifth Generation of Progress*. New York: Raven. American College of Neuropsychopharmacology. 2002
- Prodoehl J, Spraker M, Corcos D, Comella C, Vaillancourt D. 2010. Blood oxygenation level-dependent activation in basal ganglia nuclei relates to specific symptoms in de novo parkinson's disease. *Mov Disord* .
- Rodriguez-Oroz MC, Jahanshahi M, Krack P, Litvan I, Macias R, Bezard E, Obeso JA. 2009. Initial clinical manifestations of parkinson's disease: Features and pathophysiological mechanisms. *Lancet Neurol* 8(12):1128-39.
- Sanchez-Gonzalez MA, Garcia-Cabezas MA, Rico B, Cavada C. 2005. The primate thalamus is a key target for brain dopamine. *J Neurosci* 25(26):6076-83.
- Schultz W. 2002. Getting formal with dopamine and reward. *Neuron* 36(2):241-63.
- Sherman SM and Guillery RW. 2006. II ed. Cambridge, MA: The MIT press. 253-268 p.

- Smiley JF, Levey AI, Ciliax BJ, Goldman-Rakic PS. 1994. D1 dopamine receptor immunoreactivity in human and monkey cerebral cortex: Predominant and extrasynaptic localization in dendritic spines. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91(12):5720-4.
- Vitek JL, Ashe J, DeLong MR, Alexander GE. 1994. Physiologic properties and somatotopic organization of the primate motor thalamus. *J Neurophysiol* 71(4):1498-513.
- Zoli M, Torri C, Ferrari R, Jansson A, Zini I, Fuxe K, Agnati LF. 1998. The emergence of the volume transmission concept. *Brain Res Brain Res Rev* 26(2-3):136-47.

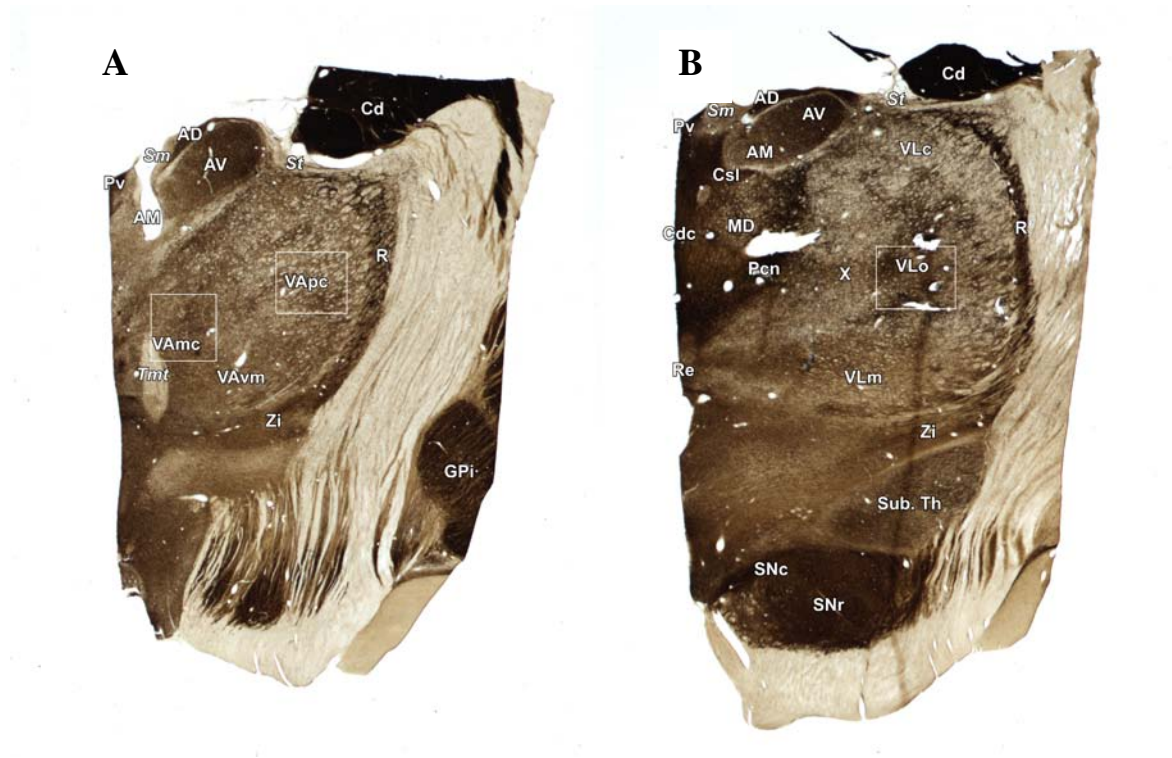


Figure 1. Photomicrographs of two acetylcholinesterase-stained coronal sections illustrating the location of the samples taken for ultrastructural examination. Medial is on the left. A: the white rectangles show the sections of the ventral anterior *pars magnocellular* (VAmc) and *parvocellular* (VApc) nuclei that were analyzed. B: the white rectangle shows the section of the ventral lateral *pars oralis* nucleus (VLo) that was analyzed. Abbreviations: AD, anterodorsal nucleus; AM, anteromedial nucleus; AV, anteroventral nucleus; Cd, caudate nucleus; Cdc, central nucleus-densocellular part; Csl, central nucleus-superior lateral part; GPI, globus pallidus, internal part; Pv, paraventricular nucleus; R, reticular nucleus; Sm, *stria medullaris*; St, *stria terminalis*; Sub. Th, subthalamic nucleus; SNc, substantia nigra *pars compacta*; SNr, substantia nigra *pars reticulata*; Tmt, mamillothalamic tract, VAmc, ventral anterior nucleus-magnocellular part; VApc, ventral anterior nucleus-parvocellular part; VAv, ventral anterior nucleus-ventromedial part; VLc, ventral lateral nucleus-caudal part; VLo, ventral lateral nucleus-oral part; X, area X; Zi, zona incerta;

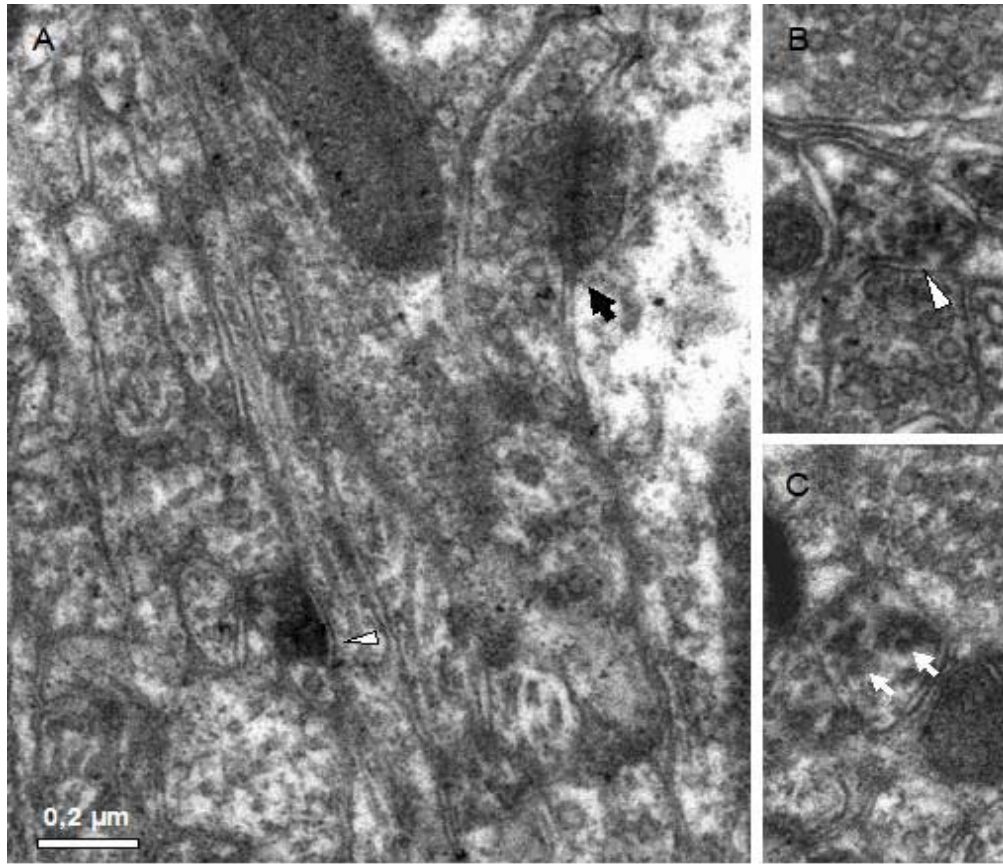


Figure 2. Ultrastructure of DAT-ir axons in the macaque VLo. (A) Transversely cut immunolabeled axon showing intensely electron dense immunoprecipitate in the plasma membrane and organelles (white arrowhead), that is characteristic of Type-I axons. Note its small sized compared with the other structures, for example, the RS terminal that is forming an asymmetric synapse on a conventional dendrite (black arrow). (B) Longitudinally cut immunolabeled axon showing the immunoprecipitate mainly in the cytoplasm and axonal organelles of a varicosity (white arrowhead), that is characteristic of Type-II axons. (C) In the DAT-Type III immunolabeling pattern, the immunoprecipitate is confined to the cytoplasm and mostly associated to microtubules (white arrows). The calibratin bar in (A) applies to (A)-(C).

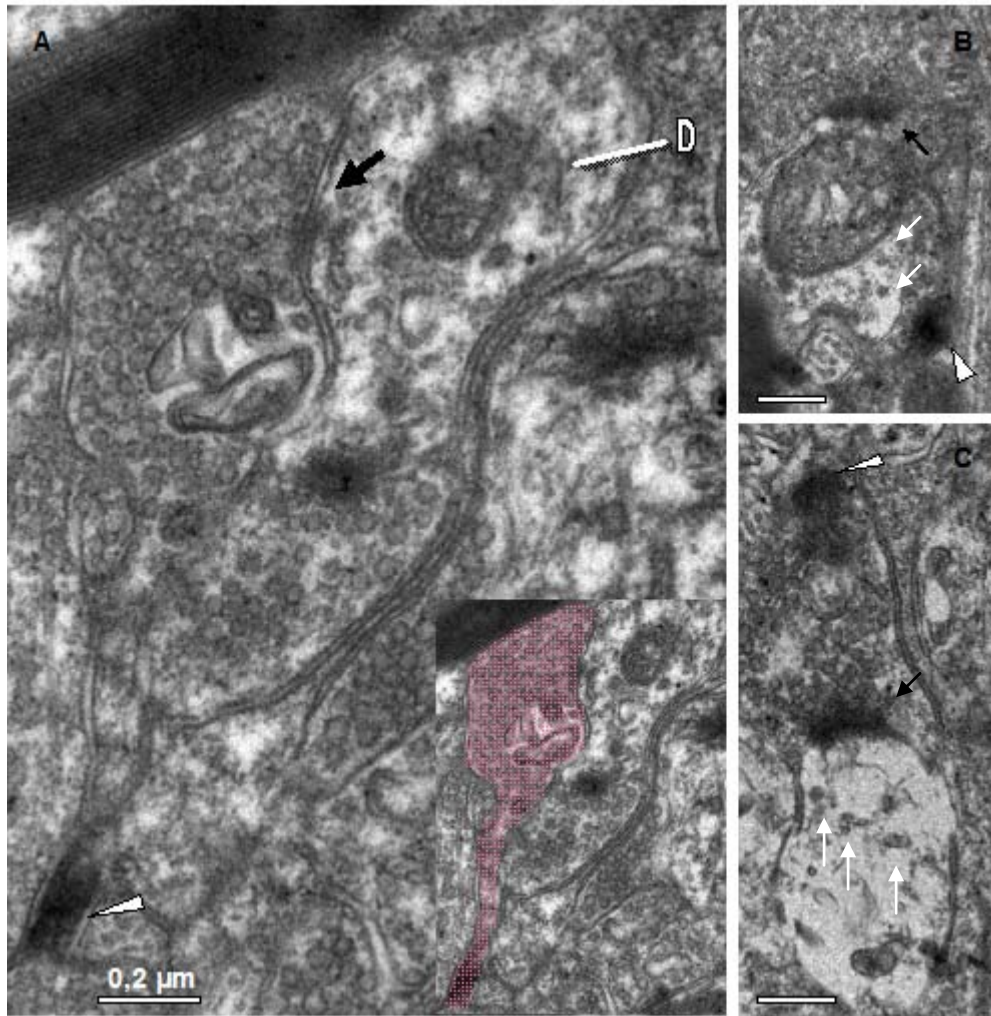


Figure 3. Ultrastructure of three DAT-ir axons forming synapses in the macaque VLo. (A) A Type-I axon that presents an electrondense immunoprecipitate attached to the plasma membrane and cytoplasm (white arrowhead), is establishing an asymmetric synaptic contact (black arrow) with a non-containing vesicles dendrite (D), typical of a thalamic projection neuron. This dendrite is receiving another asymmetric contac from a non-immunorreactive axon. The axon in B and C establish asymmetric synaptic contacts (black arrows) with contaning-vesicles dendrites (white arrows), typical of thalamic interneurons. The axon in B presents an immunoprecipitate pattern of Type-I axons, intensely apposed in the plasma membrane and cytoplasm. The axon in C presents a DAT-Type II immunolabeling pattern, with the immunoprecipitate mainly in the cytoplasm.

DISCUSIÓN

DISCUSIÓN

En los dos artículos de investigación que componen esta Tesis Doctoral se han analizado las características ultraestructurales de los axones dopaminérgicos del tálamo del primate, mediante la utilización de un anticuerpo contra el transportador de la dopamina (DAT). En el primer artículo se ha estudiado un núcleo asociativo, el MDI, y en el segundo tres núcleos del tálamo motor, VLo, VApc y VAmc. Además, en la primera parte del primer artículo se han elaborado mapas de distribución de los axones marcados con DAT tanto en la rata como en el macaco, poniendo de manifiesto la extraordinaria expansión del sistema dopaminérgico talámico en primates en comparación con los roedores. De hecho, la gran extensión de dicha innervación dopaminérgica en el tálamo de primates en comparación con la de roedores (Groenewegen, 1988; Papadopoulos y Parnavelas, 1990) parece ser una tendencia en la evolución de las especies que también ocurre con la innervación dopaminérgica de la corteza cerebral (Berger y cols., 1991).

La descripción del sistema dopaminérgico talámico es un hallazgo muy reciente. Mediante estudios con microscopía óptica se ha demostrado que, tanto el tálamo humano como el de macaco poseen una amplia innervación dopaminérgica, con un origen diverso (Sánchez-González y cols., 2005; García-Cabezas y cols., 2007). Esta innervación podría estar ejerciendo gran influencia sobre las regiones corticales, estriatales y amigdalinas conectadas con los núcleos talámicos muy densamente innervados por dopamina.

Nuestro trabajo supone la primera caracterización ultraestructural en profundidad de los axones dopaminérgicos de tálamo del macaco. En la literatura existen sólo dos estudios que analizan las características de dichos axones en macacos, pero cuentan con un número de perfiles analizados muy escaso, por lo que no se ha podido establecer cómo son sus terminales ni con qué estructuras establecen contacto. Dichos estudios se realizaron, uno en el núcleo ventral posterior (Liu y Jones, 1991) y el otro en el MD (Melchitzky y cols., 2006). En el presente trabajo se han analizado de forma específica los terminales dopaminérgicos en el MDI, VLo, VApc y VAmc del tálamo de *Macaca mulatta* mediante inmunohistoquímica para DAT. Nuestros datos se derivan del análisis de 530 axones inmunorreactivos, una población muy considerable si se compara con los

estudios precedentes (e. g. Liu y Jones, 1991). Es necesario hacer notar que se detectaron abundantes axones dopaminérgicos en MDI, VLo y VApc, mientras que VAmc presentaba un número muy escaso de ellos. Esta observación es congruente con los estudios previos de microcopía óptica de nuestro grupo (García-Cabezas y cols., 2007). Aunque el MD y los núcleos ventrales son una de las regiones más densamente inervadas por la dopamina, existe cierta heterogeneidad en los segundos. Por ejemplo, el núcleo VAmc es el núcleo motor con menor densidad de axones dopaminérgicos del macaco, lo que concuerda con nuestros resultados ultraestructurales. Sin embargo, es importante puntualizar que en el hombre el VAmc es uno de los núcleos más ricos en inervación dopaminérgica (García-Cabezas y cols., 2007).

A continuación se discuten las características ultraestructurales de los axones dopaminérgicos, la localización y morfología del DAT, las conexiones corticales y subcorticales de los núcleos en los que se ha estudiado dicha inervación, así como el posible papel de la dopamina en la función y disfunción de dichos núcleos.

1. Características ultraestructurales de los perfiles inmunorreactivos para DAT.

La mayoría de los perfiles inmunorreactivos eran axones de pequeño tamaño, de morfología tortuosa, con numerosas varicosidades. Estos datos son concordantes con los estudios previos de la microestructura óptica de los axones inmunorreactivos para DAT en el tálamo de primates (Melchitzky y Lewis, 2001; Sánchez-González y cols., 2005; García-Cabezas y cols., 2007; Melchitzky y cols., 2006). En dichos estudios se ha mostrado que estos axones presentan diferentes morfologías, aunque la mayoría de ellos son finos y varicosos, con varicosidades bastante uniformes en tamaño y en forma. Además, también se describió un grupo de axones gruesos y no varicosos que podría corresponder, en principio, a los escasos axones mielínicos encontrados en nuestro análisis. En nuestro estudio existe cierta variabilidad en el tamaño de los axones cortados en el plano transversal, sobre todo al comparar aquellos con intensa inmunorreactividad en la membrana y citoplasma (Tipo I), que son de menor tamaño, con los que presentan dicha inmunorreactividad más débil y en el citoplasma (Tipo II), o en los microtúbulos (Tipo III). Una posibilidad es que los primeros correspondan a regiones intervaricosas y los otros dos a varicosidades; otra alternativa es que se trate de axones con diferente origen u otras diferencias, por ejemplo diferentes coneurotransmisores.

Un dato destacable en el que difieren los axones dopaminérgicos de los núcleos MD y ventrales motores es en el tamaño medio de sus varicosidades: en el MD el diámetro medio fue de 0.16 μm mientras que en los núcleos ventrales el tamaño medio fue de 0.25-0.27 μm . Esto confirma la hipótesis de partida: las características ultraestructurales de la innervación dopaminérgica del MD y de los núcleos ventrales motores son diferentes, siendo las del MD comparables a las de los axones dopaminérgicos de la corteza prefrontal y las de los núcleos ventrales comparables a las de los axones dopaminérgicos del estriado (Lewis and others 2001). Las diferencias en los tamaños de las varicosidades axónicas en el MD y los núcleos ventrales pueden obedecer a un diferente origen de los axones, a que contengan diversos co-neurotransmisores o a que sean colaterales de otras vías, por ejemplo de vías meso-corticales o meso-estriatales. Para responder a estos interrogantes será necesario realizar trabajos adicionales de trazado y co-localización de marcadores.

En la literatura sólo hay un estudio que describa la morfología y distribución ultraestructural de los axones DAT-positivos en el tálamo de macaco, y se realizó en el núcleo MD (Melchitzky y cols., 2006). En dicho estudio los axones con inmunorreactividad para DAT también eran finos y varicosos y se situaban, al igual que en presente trabajo, en el neuropilo extraglomerular. En algunas ocasiones se encontraban en la cercanía del glomérulo, algo que también hemos observado en nuestros datos. En cuanto a los núcleos motores analizados, no existe en la literatura ningún estudio con el que podamos comparar nuestros hallazgos.

El otro estudio realizado en macacos donde examinaron axones catecolaminérgicos, concretamente inmunorreactivos para tirosin-hidroxilasa (TH), fue realizado en el núcleo ventral posterior del tálamo (Liu y Jones, 1991). Estos autores también definen los axones observados como finos y varicosos aunque, ocasionalmente, detectaron axones más gruesos.

Por otro lado, la morfología de los axones inmunoreactivos para DAT en nuestro trabajo es similar a la descrita en la corteza cerebral de macaco en cuanto a morfología y dimensiones (Lewis y cols., 2001).

Los axones inmunorreactivos para DAT observados se disponen con mayor frecuencia en el neuropilo extraglomerular del núcleo MD, y en el neuropilo convencional de VLo,

VApC y VAmC, donde no existen glomérulos. Además de localizarse en el espacio extraglomerular, se disponen alejados de los somas. Ambas características son típicas de la neurotransmisión de tipo modulador (Sherman y Guillery, 2006). De hecho, la dopamina es considerada una molécula de transmisión sináptica lenta o moduladora. Los neurotransmisores moduladores no ejercen sus acciones en milisegundos, como hacen los neurotransmisores “rápidos” (glutamato y GABA) a través de canales iónicos activados por ligando, sino que producen una serie de cambios bioquímicos en los que participan segundos y terceros mensajeros, protein kinasas y protein fosfatasas. Los neurotransmisores de acción lenta o moduladores controlan la transmisión sináptica rápida tanto en el terminal presináptico como postsinápticamente, con efectos cuyos rangos temporales van desde centenares de milisegundos hasta minutos (Greengard, 2001).

Es importante puntualizar que en el MD, cuyo *driver input* es un axon glutamatérgico de origen cortical, se observan glomérulos; mientras que en los núcleos motores VLo (VAd según Kultas-Ilinsky, 1987), VApC y VAmC, cuyo *driver input* es un axón GABAérgico de origen nigral o palidal, no existen glomérulos (Ilinsky y Kultas-Ilinsky K., 1990; Kultas-Ilinsky e Ilinsky, 1990; Kultas-Ilinsky y cols., 1997; Ilinsky y Kultas-Ilinsky, 1997b; Yi et als., 1993; Ilinsky y cols., 1999). Se requieren más estudios para verificar si es una constante la presencia de axones dopaminérgicos siempre fuera del glomérulo en los núcleos motores. Por ejemplo, sería de gran interés estudiar dichos axones en el núcleo motor ventral lateral (VL), cuyo *driver input* es un axón glutamatérgico de origen cerebeloso, y en el que si se han observado glomérulos (Kultas-Ilinsky e Ilinsky, 1991).

Estudios previos muestran que el tamaño pequeño y varicoso de los axones dopaminérgicos talámicos puede ser una constante en otras especies. Papadopoulos y cols. (1990) examinaron la ultraestructura de los axones dopaminérgicos en el núcleo geniculado lateral de la rata, mediante inmunocitoquímica con un antisuero contra DA. Observaron axones amielínicos y varicosos. La varicosidades solían contener de una a tres mitocondrias y agrupaciones de vesículas sinápticas. Es importante puntualizar que los estudios realizados en roedores no pueden extrapolarse totalmente al macaco, pues su anatomía es diferente. Por ejemplo, las dendritas del tálamo del macaco no presentan

espinas dendríticas y el tálamo de la rata no posee interneuronas, exceptuando algunas en el núcleo geniculado lateral.

Las vesículas sinápticas en los axones dopaminérgicos observadas en el presente trabajo son redondeadas. Este resultado es similar al observado tanto en macacos (Liu y Jones, 1991; Melchitzky y cols., 2006) como en roedores (Papadopoulos y cols., 1990). Estudios de somas y dendritas dopaminérgicos han mostrado la presencia de algunas vesículas grandes de centro denso (Pickel y Sesack, 2002) que suelen contener neurotensina o colecistokinina. Pero ningún estudio con inmunohistoquímica para DAT realizado hasta ahora en diferentes regiones del cerebro de macaco o roedor (Nirenberg y cols., 1997; Liu y Jones, 1991; Lewis y cols., 2001; Melchitzky y cols., 2006) ha descrito la presencia de este tipo de vesículas en los axones dopaminérgicos. En nuestro caso se han observado vesículas grandes de centro denso en el interior de una varicosidad y en una terminal de un axón dopaminérgico en MD. Además, se han observado dos axones en VApC y otro en VLo que contenían una vesícula de este tipo. Estos hallazgos sugieren que los axones dopaminérgicos del tálamo de primates pueden contener otros neurotransmisores.

Los terminales observados tanto en MD como en los núcleos motores contenían vesículas redondeadas y eran de pequeño o mediano tamaño, similares a los denominados terminales RS (*Round vesicles, Small size*) en el tálamo de primates. En general, este tipo de terminales tiene un origen cortical o subcortical, realizan sinapsis tanto con dendritas de neuronas de proyección como interneuronas, y suelen corresponder a axones de neurotransmisores moduladores, como es el caso de la dopamina (Sherman y Gullery, 2006).

El número de sinapsis observadas en este trabajo es pequeño en comparación con la cantidad de perfiles inmunorreactivos para DAT identificados. En el MDI, en casi 300 axones solo se observaron seis contactos sinápticos con especialización de membrana (2% del total), cinco eran asimétricos y uno simétrico. El elemento postsináptico era, en todos los casos, un perfil dendrítico con vesículas, típico de una interneurona talámica. De manera similar, se observaron cuatro sinapsis en los núcleos motores, tres en VLo (el 2% del total de axones) y una en VApC (el 1,2% del total de axones). En todos los casos los contactos sinápticos eran del tipo asimétrico. No se observaron sinapsis en VAmc. En dos de las sinapsis de VLo el elemento postsináptico era una dendrita con

vesículas, presumiblemente de una interneurona, y en la tercera era una dendrita convencional, probablemente perteneciente a una neurona de proyección. En la única sinapsis encontrada en VApC, el elemento postsináptico era también una dendrita con vesículas. La identificación de sinapsis y sus perfiles postsinápticos en los axones catecolaminérgicos del tálamo de mono ha sido muy escasa. Nosotros hemos identificado entre un 1 y un 2% de sinapsis de entre los axones inmunorreactivos para DAT. La mayoría de dichas sinapsis se observaron en los axones cortados longitudinalmente. A pesar de las cifras tan bajas, los presentes datos son el número más alto de contactos sinápticos identificados hasta la fecha. En los estudios previos sólo se han observado cinco sinapsis en total (Liu y Jones, 1991; Melchitzky y cols., 2006), y todos ellos en axones inmunomarcados para TH; por tanto, dichos axones son sólo supuestamente dopaminérgicos, ya que podrían ser noradrenérgicos. Sólo en tres de esas cinco sinapsis se pudo identificar el elemento postsináptico: en dos era una dendrita convencional (Liu y Jones, 1991) y en el tercer caso una dendrita presináptica (Melchitzky y cols, 2006).

2. Localización y morfología de la inmunorreactividad para DAT: implicaciones funcionales.

La inmunorreactividad para DAT se encuentra, tanto en MD como en los núcleos motores estudiados, en segmentos concretos de los axones, fundamentalmente en los espacios intervaricosos y a una distancia entre 0,40 y 0,50 μm de las sinapsis. Además, la mayoría de las sinapsis observadas, eran formadas por axones tipo I, es decir, con un marcaje intenso en la membrana. No existen estudios parecidos en el macaco que nos permitan establecer una correlación. Como hemos comentado previamente, en el estudio de Melchitzky y cols. (2006), no se observó ninguna sinapsis formada por axones con inmunorreactividad para DAT. Nirenberg y cols. (1996) realizaron un estudio inmunohistoquímico con DAT en el estriado dorsolateral de rata. Para el revelado, además de peroxidasa de rábano, utilizaron oro coloidal. Esto les permitió conocer con exactitud la localización del DAT en los axones. El DAT se situaba en la membrana tanto cerca como a poca distancia de la sinapsis pero, en ningún caso, sobre la sinapsis propiamente dicha.

La presencia de inmunorreactividad para DAT en zonas de la membrana más cercanas a las sinapsis sostiene el papel que se atribuye al DAT en la regulación de la

concentración de la dopamina y, además, en la finalización de la neurotransmisión dopaminérgica (Zoli y cols., 1999). Por otro lado, la localización de DAT en las porciones no sinápticas de la membrana plasmática puede indicar sitios en los que el transportador regula la concentración extracelular de la dopamina que ha sido liberada desde zonas que carecen de sinapsis bien definidas (Beaudet y Descarries, 1978; Maley y cols., 1990; Pickel y Sesack, 2002). La frecuencia con la que el DAT se observa en zonas no sinápticas puede indicar también un papel del DAT en la regulación del tiempo que la dopamina permanece en el espacio extracelular y de la distancia que recorre hasta que es recaptada tras difundir a través del neuropilo, lo que se denomina la *transmisión volumétrica*. De hecho se postula que la transmisión dopaminérgica, a diferencia de otras, es preferentemente “paracrina” o por “volumen”, es decir, ejerce su influencia de forma “micro-regional” (Nicholson y Rice, 1991).

La presencia de DAT a lo largo de la membrana plasmática próxima a las sinapsis, aunque a cierta distancia, puede indicar, además, zonas potenciales de transporte inverso, es decir, zonas de liberación de dopamina de manera independiente a la liberación vesicular mediada por calcio. Se ha demostrado la presencia de transporte inverso de dopamina a través del DAT en situaciones en las que aumenta la concentración del sodio intracelular, como la hipoglucemia o la hipoxia; ante la presencia de agonistas de receptores de aminoácidos excitatorios o ante sustancias como las anfetaminas (Pifl y cols., 1995; Esleman y cols., 1994; Sitges y cols., 1994; Bannon y cols., 2002).

En todas las sinapsis de MD y en la mayoría de las de los núcleos VLo y VApc, los elementos postsinápticos correspondieron a dendritas presinápticas, es decir, a dendritas de interneuronas. Esto indica que la dopamina podría ejercer su función moduladora actuando directamente sobre las interneuronas GABAérgicas. Esta posibilidad es concordante con un trabajo de Thomas et al. (2005), donde se estudió electrofisiológicamente la regulación de la transmisión GABAérgica del núcleo geniculado lateral de roedores. Para ello utilizaron fármacos agonistas y antagonistas dopaminérgicos. Concluyeron que la dopamina, mediante la activación de receptores dopaminérgicos D2-like en las interneuronas GABAérgicas, estimulaba a dichas neuronas, resultando en una inhibición de la actividad de las neuronas de proyección del tálamo.

3. Principales conexiones corticales y subcorticales de los núcleos estudiados: posibles acciones de la dopamina

En las tablas 1 y 2 se muestran las principales conexiones corticales y subcorticales de los núcleos MD, VLo, VApc y VA mc. La Tabla 2 muestra las conexiones corticales de dichos núcleos, mientras que la Tabla 3 detalla las aferencias subcorticales. En ambas tablas nos basamos para los apartados sobre conexiones que a continuación desarrollamos. A partir de estas conexiones sugeriremos en qué funciones cerebrales podría influir la dopamina que los inerva.

3.1. El núcleo dorsomediano

La diana fundamental del MD es la corteza prefrontal. En el macaco el MDm está conectado principalmente con la corteza prefrontal orbitaria, el MDv y la porción adyacente del MDl están conectados con la corteza prefrontal ventrolateral y dorsolateral; y el MDp está conectado con la corteza prefrontal incluyendo los sectores orbitofrontal, lateral y medial. Además de la corteza prefrontal, el núcleo MD también proyecta a cortezas límbicas, motoras y asociativas posteriores involucradas en procesamiento sensorial (Tabla 2).

Existe gran diversidad en cuanto a las aferencias subcorticales de MD. Su sector medial recibe principalmente proyecciones de estructuras límbicas como la amígdala y el prosencéfalo basal (Tabla 3). Sus sectores lateral, ventral y posterior, además de aferencias límbicas y del prosencéfalo basal, reciben importantes aferencias de estructuras motoras, como la sustancia negra *pars reticulata* (SNr), el globo pálido medial (GPm) y los núcleos profundos del cerebelo. Además, también recibe proyecciones termoalgésicas de la médula espinal y proyecciones de estructuras involucradas en otros procesamiento sensoriales, como el colículo superior y la sustancia gris periacueductal (PAG) (Tabla 3).

Existe una amplia inervación dopaminérgica en la corteza prefrontal, la diana principal del MD (Lewis y cols., 2001), donde es esencial en el funcionamiento de la memoria operativa (Brozoski y cols., 1979; Sawaguchi y Goldman-Rakic, 1991; Sawaguchi y Goldman-Rakic, 1994). Es posible que la dopamina, actuando en el MD, pudiera tener una influencia adicional indirecta sobre la función de la corteza prefrontal. Por otra

parte la dopamina, además de influir en el funcionamiento de la corteza prefrontal (y por tanto en funciones cognitivas y en comportamiento social y emocional) podría, a través del MD, ejercer una influencia amplia sobre áreas límbicas (con la excepción del hipocampo y la corteza entorrinal), áreas motoras primaria y no primarias y el estriado dorsal, y alguna función sobre áreas de asociación posteriores. (García-Cabezas, 2006; Garcia-Cabezas y cols., 2007).

3.2. Los núcleos ventrales

El tálamo motor ha sido ampliamente estudiado a lo largo de la historia y está formado por los núcleos ventrales fundamentalmente (VA y núcleos ventrales laterales), así como por los núcleos intralaminares y porciones del MD. El tálamo motor recibe aferencias principalmente de la sustancia negra *pars reticulata* (SNr), el globo pálido medial (GPM) y de los núcleos profundos del cerebelo (Asanuma y cols., 1983; Ilinsky y cols., 1985; Ilinsky y Kultas-Ilinsky, 1987) (Tabla 2). El tálamo motor está conectado con diferentes cortezas motoras (Tabla 2).

Inicialmente se describieron tres territorios diferentes de proyección de las estructuras subcorticales motoras que se distribuían por estos núcleos de una manera definida y sin solaparse: el territorio de proyección nigral (VAmc), el territorio de proyección palidal (VApc, VAdc) y el territorio de proyección cerebelosa (VL) (Ilinsky y Kultas-Ilinsky, 1987) (Tabla 3). Por otra parte, había diferentes áreas corticales hacia las cuales proyectaban cada uno de estos tres territorios de los núcleos motores ventrales: el territorio nigral a la corteza prefrontal (fundamentalmente al campo ocular frontal) y a la corteza motora suplementaria, el territorio palidal a la corteza motora suplementaria y el cerebeloso a la corteza premotora y a la motora suplementaria (Asanuma y cols., 1983; Schell y Strick, 1984; Ilinsky y cols., 1985) (Tabla 1). Sin embargo, estudios más recientes han mostrado que en los núcleos motores ventrales los territorios de proyección nigral, palidal y cerebelosa se distribuyen por extensas regiones de estos núcleos conformando interdigitaciones entre sí, aunque sin solaparse de manera destacada (Sakai y cols., 1996; Sakai y cols., 2000). Es más, Peter L. Strick ha dirigido estudios de estudios de trazado transneuronal con herpes virus en los que se demuestra que una misma área motora cortical puede recibir al mismo tiempo proyecciones del territorio nigral, palidal y/o cerebeloso. Un claro ejemplo es el campo ocular frontal, que recibe proyecciones proyecciones vía tálamo de SNr y de los núcleos profundos del

Tabla 2. Principales eferencias corticales y subcorticales de VAmc, VApc, VLo y MDI (estudios de trazado en primates).

		VAmc	VApc	VLo	MDI, MDv, MDp
Cortezas límbicas y de asociación anterior	Temporopolar				17
	Cingular anterior	25	25		5, 25
	Cingular posterior				25
	Prefrontal orbital	1,	1		1
	Prefrontal medial	1, 8	1, 8		1, 8
	Prefrontal Ventrolateral	1, 8	1, 11		1, 5, 8, 11
	Dorsolateral prefrontal	1, 8, 15	8		1, 3, 5, 8
Cortezas motoras	Campo ocular frontal y suplementario	10, 13, 15, 22	1, 10, 11, 13, 22		1, 5, 10, 11, 13, 22
	Motora primaria			4, 11, 15, 18, 22, 24	4, 18, 22
	Premotora	15, 18, 22	11, 15, 18, 22	11, 13, 15, 18, 22	4,5, 11, 13, 18, 22
	Motora suplementaria	22	13, 15, 18, 27	4, 13, 15, 18, 27	4, 18, 13, 15, 18, 27
	Motora cingular		9, 15	9	9
Cortezas de asociación posterior	Parietal posterior			21	2,3, 6, 21
	Insular, retroinsular y post-auditiva				6, 19
	Polisensorial temporal superior				3, 28
	Temporal inferior	26			
	Preestriado occipital				
Estruc- turas subcorticales	Estriado dorsal	22	22, 23	14, 23	20, 23
	Núcleo accumbens	7			

1: Barbas y cols., 1991; 2: Cavada y Goldman-Rakic, 1993; 3: Cavada y cols., 1995; 4: Darian-Smith y cols., 1990; 5: Erickson y Lewis, 2004; 6: Friedman y Murray, 1986; 7: Giménez-Amaya y cols., 1995; 8: Goldman-Rakic y Porrino, 1985; 9: Hatanaka y cols., 2003; 10: Huerta y cols., 1986; 11: Kievit y Kuypers, 1977; 12: Markowitsch y cols., 1985; 13: Matelli y Luppino, 1996; 14: MacFarland y Haber, 2001; 15: MacFarland y Haber, 2002; 16: Mehler, 1980; 17: Morán y cols., 1987; 18: Morel y cols., 2005; 19: Mufson y Mesulam, 1984; 20: Parent y cols., 1983; 21: Schmahmann y Pandya, 1990; 22: Shook y cols., 1991; 23: Smith y Parent, 1986; 24: Strick, 1976; 25: Vogt y cols., 1987; 26: Webster y cols., 1993; 27: Wiesendanger y Wiesendanger, 1985; 28: Yeterian y Pandya, 1989.

Tabla 3. Principales aferencias subcorticales de VAmc, VApc, VLo y MDI (estudios de trazado en primates).

		VAmc	VApc	VLo	MDI, MDv, MDp
Aferencias sensitivas	Columna dorsal				
	Tracto espinotalámico			1	1
	Tracto trigéminotalámico				
	Retina				
	Núcleos vestibulares				
Aferencias motoras	SNr	6, 8, 10, 11			6, 8, 10, 11
	GPM		7, 11, 12, 13, 17, 18, 19, 20, 21	7, 11, 12, 13, 17, 18, 19, 20, 21	19, 21
	Cerebelo	19	18, 19	2, 3, 5, 13, 17, 18, 19, 21	4, 5, 8, 11, 17, 18, 19,
Cortezas de asociación posterior	Amígdala				
	Hipotálamo				8, 22
	Prosencéfalo basal				16
Otras aferencias	MTA				8
	PAG				8, 15
	Pretektum retinoceptivo				
	Pretektum no retinoceptivo				
	Colículo superior retinoceptivo				8
	Colículo superior no retinoceptivo	8, 9			8, 15

GPM: globo pálido medial; PAG: sustancia gris periacueductal, SNr: sustancia negra, *pars reticulata*; MTA: área tegmental ventral.

1: Apkarian, 1989; 2: Asanuma, 1983; 3: Batton, 1977; 4: Berkley, 1983; 5: Calzavara, 2005; 6: Carpenter, 1976; 7: De Vito, 1982; 8: Erickson, 2004; 9: Harting, 1980; 10: Ilinsky, 1985; 11: Ilinsky, 1987; 12: Inase, 1995; 13: Kalil, 1981; 14: Kim, 1976; 15: Mantyh, 1983; 16: Parent, 1988; 17: Rouiller, 1994; 18: Sakai, 1996; 19: Sakai, 2000; 20: Sidibe, 1997; 21: Stepniewska, 2003; 22: Veazey, 1982.

cerebelo (Lynch y cols., 1994), mientras que la corteza motora primaria recibe proyecciones a través del tálamo de Gpm y también de los núcleos profundos del cerebelo (Hoover y Strick., 1999) (Tabla 3).

Realizando un análisis más detallado de cada núcleo, podemos decir que el VAmc recibe el mayor grueso de proyecciones nigricas talámicas (Ilinsky y cols., 1985) así como proyecciones desde las capas profundas del colículo superior (Harting y cols., 1980) (Tabla 3); sus dianas corticales más relevantes son el campo ocular frontal, aunque también está conectado con otras cortezas motoras no primarias, el estriado y la corteza prefrontal (Tabla 2). El territorio de proyección palidal en el tálamo del mono comprende mayoritariamente VApc, la parte ventromedial del VA (VAvm), VLo y CnMd (Ilinsky y Kultas-Ilinsky, 1987; Sakai y cols., 1996; Sakay y cols., 2000). VApc y VLo están conectados preferentemente con la corteza premotora y corteza motora suplementaria y el estriado (Tabla 2). Finalmente, la proyección cerebelosa al tálamo de mono está distribuida fundamentalmente entre VLc, VPLo, área X, la porción lateral de CL y MDp (Asanuma y cols., 1983; Sakai y cols., 1996; Sakai y cols., 2000).

Los estudios de inervación dopaminérgica del tálamo sugieren, en virtud a la circuitería talámica conocida, que la dopamina en el territorio palidal y cerebeloso de los núcleos motores ventrales del tálamo de los primates podría modular funciones motoras como la planificación y ejecución de movimientos, mientras que en el territorio nigral modularía funciones oculomotoras. Los territorios nigral y cerebeloso también proyectan a la corteza parietal posterior, por lo que la dopamina también podría modular en ellos la integración de aferencias sensoriales y motoras.

4. La dopamina talámica en enfermedades psiquiátricas y neurológicas

Numerosas enfermedades neurológicas y psiquiátricas se asocian a una alteración en la neurotransmisión dopaminérgica, como las enfermedades con sintomatología motora extrapiramidal y las psicosis (Carlsson, 2002; Hornykiewicz, 2002). Alguna de ellas podría presentar alteraciones talámicas en los núcleos que han sido estudiados en el presente trabajo, explicando parte de su espectro clínico.

La enfermedad de Parkinson (EP) está caracterizada por los síntomas motores derivados de la pérdida de inervación dopaminérgica en el estriado producida por una

degeneración de las neuronas de la sustancia negra *pars compacta* (Agid, 1991). Sin embargo, tanto en los pacientes con EP como en los monos parkinsonizados de manera experimental con MPTP (1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina), parece ser que se afectan otros grupos dopaminérgicos del mesencéfalo y del hipotálamo (Javoy-Agid y cols., 1981; Javoy-Agid y cols., 1984; Schneider y cols., 1987; German y cols., 1988; Hirsch y cols., 1988; Pifl y cols., 1990; Pifl y cols., 1991). Entre estos grupos, el área tegmental ventral, la región retrorubral y la sustancia gris periacueductal, así como varios grupos de células hipotalámicas dopaminérgicas, proyectan al tálamo del primate (Sánchez-González y cols., 2005). Por lo tanto, es probable que la innervación dopaminérgica del tálamo esté reducida en la EP y en los monos parkinsonizados mediante MPTP. Datos provenientes de los monos parkinsonizados con MPTP apoyan esta hipótesis: la dopamina está reducida de manera significativa en MD y en el núcleo centromediano (Piel y cols., 1990; Piel y cols., 1991) y la unión al DAT mediante tomografía por emisión de positrones (PET) está disminuida en todo el tálamo (Brownell y cols., 2003). Si la dopamina talámica está reducida en la EP, la neurotransmisión anormal a través de los núcleos motores talámicos podría contribuir a síntomas motores de la enfermedad que todavía no son explicados. Por ejemplo, estudios con resonancia magnética funcional han mostrado que la bradicinesia está asociado con una baja activación del tálamo en los pacientes con EP (Prodoehl y cols., 2010).

En los pacientes con esquizofrenia, los estudios de imagen cerebral postmortem han analizado los volúmenes talámicos, la perfusión talámica y el metabolismo, aunque los hallazgos han sido contradictorios y no se han demostrado definitivamente alteraciones talámicas (Clinton y miador-Woodruff, 2004; Sim y cols., 2005). Sin embargo, los estudios bioquímicos de los años 80 demostraron una elevación de la dopamina talámica en los esquizofrénicos (Oke y Adams, 1987) y estudios con PET recientes han encontrado una disminución en las uniones a los receptores D2-like (Yasuno y cols., 2004), así como a D2 y D3-like (Talvik y cols., 2003) en el tálamo medial, incluyendo el MD. Estos datos sugieren que en muchos síntomas de esquizofrenia podría subyacer una transmisión dopaminérgica talámica aberrante. La demostración de una innervación dopaminérgica en el tálamo humano provee de un sustrato anatómico para estas alteraciones.

Referencias de la Discusión

- Agid Y, 1991. Parkinson's disease: pathophysiology. *Lancet* 337: 1321-1324.
- Apkarian AV, Hodge CJ. 1989. Primate spinothalamic pathways: III. Thalamic terminations of the dorsolateral and ventral spinothalamic pathways. *J Comp Neurol*; 288:493-511.
- Asanuma C, Thach WT, Jones EG, 1983. Distribution of cerebellar terminations and their relation to other afferent terminations in the ventral lateral thalamic region of the monkey. *Brain Res* 286, 237-265.
- Bannon MJ, Sacchetti P, Granneman. The Dopamine Transporter: Potential Involvement in Neuropsychiatric Disorders. En: Davis KL, Charney K, Coyle JT and Nemeroff C. Editors. *Neuropsychopharmacology: The Fifth Generation of Progress*. New York. American College of Neuropsychopharmacology. 2002.
- Barbas H, Henion TH, Dermon CR. Diverse thalamic projections to the prefrontal cortex in the rhesus monkey. *J Comp Neurol* 1991; 313: 65-94.
- Batton RR, 3rd, Jayaraman A, Ruggiero D, Carpenter MB. 1977. Fastigial efferent projections in the monkey: an autoradiographic study. *J Comp Neurol* 174, 281-305.
- Beaudet A y Descarries L. The monoamine innervation of rat cerebral cortex: synaptic and non-synaptic axon terminals. *Neuroscience* 1978; 3: 851-860.
- Berger B, Gaspar P, Verney C (1991) Dopaminergic innervation of the cerebral cortex: unexpected differences between rodents and primates. *Trends Neurosci* 14:21-27.
- Berkley KJ. 1983. Spatial relationships between the terminations of somatic sensory motor pathways in the rostral brainstem of cats and monkeys. II. Cerebellar projections compared with those of the ascending somatic sensory pathways in lateral diencephalons. *J Comp Neurol*; 220: 229-251.
- Brownell AL, Canales K, Chen YI, Jenkins BG, Owen C, Livni E, Yu M, Cicchetti F, Sánchez-Pernaute R, Isacson O, 2003. Mapping of brain function after MPTP-induced neurotoxicity in a primate Parkinson's model. *Neuroimage* 20, 1064-1075.
- Calzavara R, Zappala A, Rozzi S, Matelli M, Luppino G. 2005. Neurochemical characterization of the cerebellar-recipient motor thalamic territory in the macaque monkey. *Eur J Neurosci*; 21:1869-1894.
- Carlsson A. Birth of dopamine: a cinderella saga. En: Borrelli E, Di Chiara G, Wang S, editors. *Dopamine in the CNS I*. New York: Springer-Verlag. 2002. P 23-41.

- Carpenter MB, Nakano K, Kim R. 1976. Nigrothalamic projections in the monkey demonstrated by autoradiographic technics. *J Comp neurol* 165:401-416.
- Cavada C, Golman-Rakic PS. 1993. Multiple visual areas in the posterior parietal córtex of primates. *Prog Brain Res* 95:123-137.
- Cavada C, Compañy T, Hernández-González A, Reinosos-Suárez F. Acetylcholinesterase histochemistry in the macaque thalamus reveals territorios selectibely connected to frontal, parietal and temporal association cortices. *J Chem Neuroanat* 1995; 8: 245-257.
- Clinton SM, Meador-Woodruff JH, 2004. Thalamic dysfunction in schizophrenia: neurochemical, neuropathological, and in vivo imaging abnormalities. *Schizophr Res* 69, 237-253.
- Darian-Smith C, Darian-Smith I, Cheema SS. 1990. Thalamic projections to sensorimotor cortex in the macaque monkey: use of multiple retrograde fluorescent tracers. *J Comp Neurol* 299, 17-46.
- DeVito JL, Anderson ME. 1982. An autoradiographic study of efferent connections of the globus pallidus in *Macaca mulatta*. *Exp Brain Res* 46,107-117.
- Erickson SL, Lewis DA. 2004. Cortical connections of the lateral mediodorsal thalamus in cynomolgus monkeys. *J Comp Neurol* 473, 107-127.
- Eshleman AJ, Henningsen RA, Neve KA, Janowsky A. Release of dopamine via the human transporter. *Mol Pharmacol* 1994; 45: 312-316.
- Friedman DP, Murray EA. 1986. Thalamic connectivity of the second somatosensory area and neighboring somatosensory fields of the lateral sulcus of the macaque. *J Comp Neurol* 252, 348-373.
- García-Cabezas, M.A. 2006. Inervación dopaminérgica del tálamo del hombre y de monos macacos. Tesis Doctoral – Universidad Autónoma de Madrid.
- García-Cabezas, M.A., Rico, B., Sánchez-González, M.A., Cavada, C., 2007. Distribution of the dopamine innervation in tha macaque and human thalamus. *Neuroimage* 34:965-984.
- German DC, Dubach M, Askari S, Speciale SG, Bowden DM, 1988. 1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,7-tetrahydropyridine-induced parkinsonian syndrome in *Macaca fascicularis*: wich midbrain dopaminergic neurons are lost? *Neuroscience* 24,161-174.

- Giménez-Amaya JM, McFarland RN, de las Heras S, Haber SN. 1995. Organization of thalamic projections to the ventral striatum in the primate. *J Comp Neurol*; 354: 127-149.
- Goldman-Rakic PS, Porrino LJ. 1985. The primate mediodorsal (MD) nucleus and its projections to the frontal lobe. *J Comp Neurol*; 242: 535-560.
- Greengard P. The neurobiology of slow synaptic transmission. *Science* 2001; 4:1024-1030.
- Groenewegen HJ, 1988. Organization of the afferent connections of the mediodorsal thalamic nucleus in the rat, related to the mediodorsal-prefrontal topography. *Neuroscience* 24, 379-431.
- Harting JK, Huerta MF, Frankfurter AJ, Strominger NL, Royce GJ. 1980. Ascending pathways from the monkey superior colliculus: an autoradiographic analysis. *J Comp Neurol* 192, 853-882.
- Hatanaka N, Tokuno H, Hamada I, Inase M, Ito Y, Imanishi M, Hasegawa N, Akazawa T, Nambu A, Takada M. 2003. Thalamocortical and intracortical connections of monkey cingulated motor areas. *J Comp Neurol* 462,121-138.
- Hornykiewicz O. 2002. Brain dopamine: a historical perspective. In: Di Chiara, G. (Ed.), *Dopamine in the CNS I, Handbook of experimental pharmacology Vol. 154/I*, Springer, Berlin, pp. 1-22.
- Huerta MF, Krubitzer LA, Kaas JH. 1986. Frontal eye field as defined by intracortical microstimulation in squirrel monkeys, owl monkeys, and macaque monkeys: I. Subcortical connections. *J Comp Neurol* 253, 415-439.
- Ilinsky IA, Jouandet ML, Goldmand-Rakic PS. 1985. Organization of the nigrothalamocortical system in the rhesus monkey. *J Comp Neurol*; 236:315-330.
- Ilinsky IA, Kultas-Ilinsky K. 1987. Sagittal cytoarchitectonic maps of the Macaca mulatto thalamus with a revised nomenclature of the motor-related nuclei validated by observations on their connectivity. *J Comp neurol* 262, 331-364.
- Ilinsky, I.A., Kultas-Ilinsky, K., 1990. Fine structure of the magnocellular subdivision of the ventral anterior thalamic nucleus (VAmc) of *Macaca mulatta*: I. Cell types and synaptology. *J Comp Neurol* 294:455-478.
- Ilinsky, I., Tourtellotte, W.G., Kultas-Ilinsky, K., 1993. Anatomical distinctions between two basal ganglia afferent territories in the primate motor thalamus. *Stereotact Funct Neurosurg* 60:62-69.

- Ilinsky, I.A., Yi, H., Kultas-Ilinsky, K., 1997. Mode of termination of pallidal afferents to the thalamus: a light and electron microscopic study with anterograde tracers and immunocytochemistry in *Macaca mulatta*. *J Comp Neurol* 386, 601-612.
- Ilinsky, I.A., Ambardekar, A.V., Kultas-Ilinsky, K., 1999. Organization of projections from the anterior pole of the nucleus reticularis thalami (NRT) to subdivisions of the motor thalamus: light and electron microscopic studies in the rhesus monkey. *J Comp Neurol* 409:369-84.
- Inase M, Tanji J. 1995. Thalamic distribution of projection neurons to the primary motor cortex relative to afferent terminal fields from the globus pallidus in the macaque monkey. *J Comp Neurol*; 353:415-426.
- Javoy-Agid F, Taquet H, Ploska A, Cherif-Zahar C, Ruberg M, Agid Y, 1981. Distribution of catecholamines in the ventral mesencephalon of human brain, with special reference to Parkinson's disease. *J Neurochem* 36,2101-2105.
- Javoy-Agid F, Ruberg M, Pique L, Bertagna X, Taquet H, Studler JM, Cesselin F, Epelbaum J, Agid Y, 1984. Biochemistry of the hypothalamus in Parkinson's disease. *Neurology* 34,672-675.
- Kalil K. 1981. Projections of the cerebellar and dorsal column nuclei upon the thalamus of the rhesus monkey. *J Comp Neurol*; 195:25-50.
- Kievigt J, Kuypers HGJM. 1977. Organization of thalamo-cortical connections to the frontal lobe in the rhesus monkey. *Exp. Brain Res* ; 29: 299-322.
- Kim R, Nakano K, Jayaraman A, Carpenter MB. 1986. Projections of the globus pallidus and adjacent structures: an autoradiographic study in the monkey. *J Comp Neurol* 169, 263-290.
- Kultas-Ilinsky, K., Ilinsky, I.A., Warton, S., Smith, K.R., 1983. Fine structure of nigral and pallidal afferents in the thalamus: An EM autoradiography study in the cat. *J Comp Neurol* 216: 390-405.
- Kultas-Ilinsky, K., Ilinsky, I.A., 1990. Fine structure of magnocellular subdivision of the ventral anterior thalamic nucleus (VAm) of *Macaca mulatta*: II. Organization of nigrothalamic afferents as revealed with EM autoradiography. *J Comp Neurol* 294:479-489.
- Kultas-Ilinsky, K., Ilinsky, I., 1991. Fine structure of the ventral lateral nucleus (VL) of the *Macaca mulatta* thalamus: cell types and synaptology. *J Comp Neurol* 314, 319-349.

- Kultas-Ilinsky, K., Reising, L., Yi, H., Ilinsky, I.A., 1997. Pallidal afferent territory of the *Maccaca mulatta* thalamus: neuronal and synaptic organization of the VAdc. *J Comp Neurol* 386, 573-600.
- Lewis DA, Melchitzky DS, Sesack SR, Whitehead RE, Levey AI, Auh S, Sampson AR. Dopamine transporter immunoreactivity in monkey cerebral cortex: regional, laminar and ultrastructural localization. *J Comp Neurol* 2001; 432: 119-138.
- Liu XB and Jones EG. The fine structure of serotonin and tyrosine hydroxylase immunoreactive terminals in the ventral posterior thalamic nucleus of cat and monkey. *Exp Brain Res* 1991; 85: 507-518.
- Maley BE, Engle MG, Humphries S, Vascik DA, Howes KA, Newton BW, Elde RP. Monoamine synaptic structure and localization in the central nervous system. *J Electron Microscop Tech* 1990; 15: 20-33.
- Mantyh PW. 1983. The spinothalamic tract in the primate: a re-examination using wheatgerm agglutinin conjugated to horseradish peroxidase. *Neuroscience* 9, 847-862.
- Markowitsch HJ, Emmans D, Irle E, Streicher M, Preilowski B. 1985. Cortical and subcortical afferent connections of the primates's temporal pole: a study of rhesus monkeys, squirrel monkeys, and marmosets. *J Comp Neurol* 242, 425-458.
- Matelli M, Luppino G. 1996. Thalamic input to mesial and superior area 6 in the macaque monkey. *J Comp Neurol* 372, 59-87.
- McFarland NR, Haber SN. 2001. Organization of thalamostriatal terminals from the ventral motor nuclei in the macaque. *J Comp Neurol* 429,321-336.
- McFarland NR, Haber SN. 2002. Thalamic relay nuclei of the basal ganglia form both reciprocal and nonreciprocal cortical connections, linking multiple frontal cortical areas. *J Neurosci* 22, 8117-8132.
- Mehler WR. 1980. Subcortical afferent connections of the amygdale in the monkey. *J Comp Neurol* 190,733-762.
- Melchitzky DS, Lewis DA. Dopamine transporter-immunoreactive axons in the mediodorsal thalamic nucleus of the macaque monkey. *Neuroscience* 2001; 103: 1033-1042.
- Melchitzky DS, Erickson SL, Lewis DA, 2006. Dopamine innervation of the monkey mediodorsal thalamus: Location of projection neurons and ultrastructural characteristics of axon terminals. *Neuroscience*, 143 (4): 1021-30.

- Moran MA, Mufson EJ, Mesulam MM. 1987. Neural inputs into the temporopolar cortex of the rhesus monkey. *J Comp Neurol* 256, 88-103.
- Morel A, Liu J, Wannier T, Jeanmonod D, Rouiller EM. 2005. Divergence and convergence of thalamocortical projections to premotor and supplementary motor cortex : a multiple tracing study in the macaque monkey. *Eur J Neurosci* 21,1007-1029.
- Mufson EJ, Mesulam MM. 1984. Thalamic connections of the insula in the rhesus monkey and comments on the paralimbic connectivity of the medial pulvinar nucleus. *J Comp Neurol* 227, 109-120.
- Nicholson C & Rice ME. Diffusion of ions and transmitters in the brain cell microenvironment. En: Volume Transmission in the Brain: Novel Mechanism for Neural Transmission. Fuxe K & Agnati LF editors. New York: Raven Press. Ltd. 1991. P 279-294
- Nirenberg MJ, Chan J, Liu YT, Edwards RH, Pickel VM. Ultrastructural localization of the vesicular monoamine transporter-2 in midbrain dopaminergic neurons: Potential sites for somatodendritic storage and release of dopamine. *J Neurosci* 1996; 16: 4135-4145.
- Nirenberg MJ, Chan J, Pohorille A, Vaughan RA, Uhl GR, Kuhar MJ, Pickel VM. The dopamine transporter: Comparative ultrastructure of dopaminergic axons in limbic and motor compartments of the nucleus accumbens. *J Neurosci* 1997; 17: 6899-6907.
- Oke AF, Carver LA, Gouvion CM, Adams RN, 1997. Three-dimensional mapping of norepinephrine and serotonin in human thalamus. *Brain Res* 763, 69-78.
- Papadopoulos GC, Parnavelas JG. Distribution and synaptic organization of dopaminergic axons in the lateral geniculate nucleus of the rat. *J Comp Neurol* 1990; 294: 356-361.
- Parent A, Mackey A, De Bellefeuille L. 1983. The subcortical afferents to caudate nucleus and putamen in primate: a fluorescence retrograde double labeling study. *Neuroscience*; 10: 1137-1150.
- Parent A, Pare D, Smith Y, Steriade M. 1988. Basal forebrain cholinergic and noncholinergic projections to the thalamus and brainstem in cats and monkeys. *J Comp Neurol* 277, 281-301.

- Pifl C, Bertel O, Schingnitz G, Hornykiewicz O, 1990. Extrastriatal dopamine in symptomatic and asymptomatic rhesus monkeys treated with 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP). *Neurochem Int* 17,263-270.
- Pifl C, Schingnitz G, Hornykiewicz O, 1991. Effect of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine on the regional distribution of brain monoamines in the rhesus monkey. *Neuroscience* 44, 591-605.
- Pifl C, Drobny G, Reither H, Hornykiewicz O, Singer EA. Mechanism of the dopamine-releasing actions of amphetamine and cocaine: plasmalemmal dopamine transporter versus vesicular monoamine transporter. *Mol Pharmacol* 1995. 47: 368-373.
- Pickel VM y Sesack SR. Electron Microscopy of Central Dopamine Systems. En: Davis KL, Charney K, Coyle JT and Nemeroff C. Editors. *Neuropsychopharmacology: The Fifth Generation of Progress*. New York: Raven. American College of Neuropsychopharmacology. 2002.
- Prodoehl J, Speaker M, Corcos D, Comella C, Vaillancourt D, 2010. Blood oxygenation level-dependent activation in basal ganglia nuclei relates to specific symptoms in the novo Parkinson's disease. *Mov Disord* 2010.
- Rouiller EM, Liang F, Babalian A, Moret V, Wiesendanger M. 1994. Cerebellothalamocortical and pallidothalamocortical projections to the primary and supplementary motor cortical areas: a multiple tracing study in macaque monkeys. *J Comp Neurol* 345, 185-213.
- Sakai ST, Inase M, Tanji J. 1996. Comparison of cerebellothalamic and pallidothalamic projections in the monkey (*Macaca fuscata*): a Double anterograde labeling study. *J Comp Neurol* 368, 215-228.
- Sakai ST, Stepniewska I, Qi HX, Kaas JH. 2000. Pallidal and cerebellar afferents to presupplementary motor area thalamocortical neurons in the owl monkey: a multiple labeling study. *J Comp Neurol* 417, 164-180.
- Schmahmann JD, Pandya DN. 1990. Anatomical investigation of projections from thalamus to posterior parietal cortex in the rhesus monkey: a WGA-HRP and fluorescent tracer study. *J Comp Neurol* 295, 299-326.
- Schneider JS, Yuwiler A, Markham CH, 1987. Selective loss of subpopulations of ventral mesencephalic dopaminergic neurons in the monkey following exposure to MPTP. *Brain Res* 411, 144-150.

- Shook BL, Schlag-Rey M, Schlag J. 1991. Primate supplementary eye field. II. Comparative aspects of connections with the thalamus, corpus striatum, and related forebrain nuclei. *J Comp Neurol* 307,562-583.
- Sherman SM, Guillery RW. 2006. Exploring the thalamus. Cambridge, London: the Massachusetts Institute of Technology Press.
- Sidibe M, Beban MD, Bolam JP, Smith Y. 1997. Efferent connections of the internal globus pallidus in the squirrel monkey: I. Topography and synaptic organization of the pallidothalamic projection. *J Comp Neurol* 382, 323-347.
- Sitges M, Reyes A, Chiu LM. Dopamine transporter mediated release of dopamine: role of chloride. *J Neurosci Res* 1994; 39: 11-22.
- Smith Y, Parent A. 1986. Differential connections of caudate nucleus and putamen in the squirrel monkey (*Saimiri sciureus*). *Neuroscience* 18, 347-371.
- Stepniewska I, Sakai ST, Qi HX, Kaas JH. 2003. Somatosensory input to the ventrolateral thalamic region in the macaque monkey: potential substrate for parkinsonian tremor. *J Comp Neurol* 455, 378-395.
- Strick, P.L., 1976. Anatomical analysis of ventrolateral thalamic input to primate motor cortex. *J Neurophysiol* 39, 1020-1031.
- Talvik M, Nordstrom AL, Olsson H, Halldin C, Farde L. Decreased thalamic D2/D3 receptor binding in drug-naïve patients with schizophrenia: a PET study with [¹¹C]FLB 457. *Int J Neuropsychopharmacol* 2003; 6: 361-370.
- Thomas M, Yanagawa Y, Obata K, Pape HC. Dopaminergic control of local interneuron activity in the thalamus. *Europ J of Neurosci* 2005; 21: 290-294.
- Veazey RB, Amaral DG, Cowan WM. 1982. The morphology and connections of the posterior hypothalamus in the cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*). II. Efferent connections. *J Comp Neurol* 207, 135-156.
- Vogt BA, Pandya DN, Rosene DL. 1987. Cingulate cortex of the rhesus monkey: I. Cytoarchitecture and thalamic afferents. *J Comp Neurol* 262,256-270.
- Webster MJ, Bachevalier J, Ungerleider LG. 1993. Subcortical connections of inferior temporal areas TE and TEO in macaque monkeys. *J Comp Neurol* 335,73-91.
- Wiesendanger R, Wiesendanger M. 1985. The thalamic connections with medial area 6 (supplementary motor cortex) in the monkey (*Macaca fascicularis*). *Exp Brain Res* 59, 91-104.

- Yasuno F, Suhara T, Okubo Y, Sudo Y, Inoue M, Ichimiya T, Takamo A, Nakayama K, Halldin C, Farde L, 2004. Low dopamine D(2) receptor binding in subregions of the thalamus in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 11, 1016-1022.
- Yeterian EH, Pandya DN. 1989. Thalamic connections of the cortex of the superior temporal sulcus in the rhesus monkey. *J Comp Neurol* 282, 80-97.
- Zoli M, Torri C, Ferrari R, Jansson A, Zini I, Fuxe K, Agnati LF. The emergence of the volume transmission concept. *Brain Res Rev* 1998; 26: 136-147.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

El objetivo principal de esta Tesis era estudiar las características morfológicas ultraestructurales de la innervación dopaminérgica de un núcleo talámico asociativo conectado con la corteza frontal asociativa, el dorsomediano - sector lateral (MDl), así como de los núcleos talámicos conectados con la corteza motora frontal, en concreto el ventral lateral - porción oral (VLo), ventral anterior - porción parvocelular (VApc), ventral anterior - porción magnocelular (VAmc) y el propio MDl. Hemos utilizado para ello inmunomarcaje para el transportador de dopamina (DAT).

Las principales conclusiones de este trabajo son:

1. En los núcleos MDl, VLo, VApc y VAmc del tálamo de *Macaca mulatta* el DAT se encuentra exclusivamente en axones. Los axones que expresan DAT son de pequeño tamaño, fundamentalmente amielínicos y varicosos y, en el MDl, se encuentran preferentemente en el neuropilo extraglomerular. En los núcleos motores se observaron, además, algunos axones mielínicos y de mayor grosor. Los axones amielínicos podrían corresponder a los campos terminales del sistema dopaminérgico talámico, mientras que los mielínicos a porciones más proximales.
2. El DAT se encuentra fundamentalmente en los espacios intervaricosos de los axones. Hemos identificado y descrito por primera vez tres patrones de inmunomarcaje con DAT en los axones cortados transversalmente, tanto en MD como en VLo, VApc y VAmc. El Tipo I, el más frecuente, muestra el inmunoprecipitado muy intenso y apuesto estrechamente sobre la superficie interna de la membrana plasmática. El Tipo II, algo menos frecuente, muestra un patrón similar al I pero con menor intensidad de marcaje. El Tipo III, el menos frecuente, muestra inmunoprecipitado confinado exclusivamente al citoplasma, unido a los microtúbulos. Los axones de Tipo I son de menor tamaño que los de Tipo II o III. Sugerimos que los primeros podrían corresponder a la expresión del transportador en espacios intervaricosos y los otros dos a su expresión en varicosidades. Otra posibilidad es que se trate de axones con orígenes, u otras características, diversos.

3. El tamaño medio de las varicosidades de los axones dopaminérgicos es diferente en el MD (diámetro medio: 0.16 μm) y en los núcleos ventrales motores examinados (diámetro medio: 0.25-0.27 μm). Esto confirma la hipótesis de partida: las características ultraestructurales de la innervación dopaminérgica del MD y de los núcleos ventrales motores son diferentes. Las diferencias pueden estar en relación con un diferente origen de los axones, con un diverso contenido en co-neurotransmisores o con que sean colaterales de otras vías, por ejemplo de vías meso-corticales o meso-estriales. Esto último es plausible porque los tamaños de los axones dopaminérgicos de la corteza prefrontal y estriado son diversos entre sí y similares a los de los axones del núcleo MD y de los núcleos ventrales motores del tálamo, respectivamente.
4. Los escasos terminales observados tanto en MD como en los núcleos motores son de tamaño pequeño-mediano y con vesículas redondeadas, por lo que podrían corresponder con el tipo de terminal RS (*Round vesicles, Small size*) descrito en el tálamo de primates. Los terminales RS suelen contener neurotransmisores moduladores, como es el caso de la dopamina. Además, se han observado por primera vez vesículas de centro denso en axones dopaminérgicos, tanto en MD como en VLo, lo que sugiere que los axones dopaminérgicos del tálamo de primates podrían contener otros neurotransmisores.
5. El inmunomarcaje para DAT se sitúa mayoritariamente en la membrana plasmática de los axones y alejado de forma variable de los contactos sinápticos. Esto sostiene el papel que se atribuye al DAT en la regulación de la concentración de la dopamina y del tiempo que permanece en el espacio extracelular hasta que es recaptado, finalizando así la neurotransmisión. Por tanto, la localización del DAT en los axones talámicos es compatible con la denominada *transmisión volumétrica* postulada para la dopamina y otras aminas biógenas. Por otra parte, la presencia de DAT a lo largo de la membrana plasmática próxima a las sinapsis, aunque a cierta distancia, puede indicar, además, zonas potenciales de transporte inverso, es decir, zonas de liberación de dopamina de manera independiente a la liberación vesicular mediada por calcio.
6. Se han observado y descrito por primera vez contactos sinápticos con especialización de membrana en axones dopaminérgicos talámicos. El número

de tales contactos fue escaso, siempre fueron de tipo asimétrico y se observaron en axones cortados longitudinalmente. La razón principal de la escasez de sinapsis en los axones dopaminérgicos del tálamo de macaco podría estar en el plano de corte. Tanto en MD como en los núcleos ventrales del tálamo del mono, la mayoría de los axones siguen un curso rostro-caudal. Sin embargo, en la mayoría de los estudios se realizan cortes coronales del tálamo, por lo que la mayoría de los axones son seccionados de manera transversal. El plano de corte talámico parasagital podría ofrecer un mayor número de axones dopaminérgicos cortados longitudinalmente, y por tanto un mayor número de perfiles sinápticos.

7. Las estructuras postsinápticas son, en MDI, dendritas que contienen vesículas, por lo que se trata de dendritas presinápticas de interneuronas, presumiblemente GABAérgicas. En VLo y VApc, los elementos postsinápticos también son mayoritariamente dendritas con vesículas, aunque en VLo se ha observado una sinapsis sobre una dendrita convencional, perteneciente a una neurona de proyección. Por tanto, puede especularse que la dopamina talámica ejerce una acción predominante sobre las interneuronas aunque en ocasiones también podría ejercer un efecto directo sobre las neuronas de proyección.
8. De las conexiones aferentes y eferentes del núcleo MD se desprende que la dopamina cerebral podría tener una influencia, a través del tálamo, sobre el funcionamiento de la corteza prefrontal, y por tanto en funciones cognitivas y en comportamiento social y emocional. A través de la innervación de los núcleos VLo, VApc y VAmc, la dopamina podría modular funciones motoras como la planificación y ejecución de movimientos, así como funciones oculomotoras.
9. La pérdida o disfunción de la neurotransmisión o neuromodulación dopaminérgica en los núcleos MDI, VLo, VApc y VAmc del tálamo podría ser el sustrato fisiopatológico de algunos síntomas de enfermedades debidas a lesión o disfunción de los sistemas dopaminérgicos que afectan a la motricidad, como la enfermedad de Parkinson. Además, también podría estar implicada en la afectación de funciones cognitivas superiores, como la memoria operativa, y los síntomas de algunas enfermedades psiquiátricas.